

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

*На правах рукописи*

Кузнецов Юрий Евгеньевич

**ПАРАЗИТОЗЫ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ В ХОЗЯЙСТВАХ  
СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**  
(меры борьбы и профилактика)

**Диссертация**

на соискание ученой степени  
доктора ветеринарных наук по специальностям

03.02.11 – Паразитология

06.02.03 – Ветеринарная фармакология с токсикологией

**Научные консультанты:**

Доктор биологических наук Белова Л.М.

Доктор ветеринарных наук, доцент Гаврилова Н.А.

Санкт-Петербург, 2020

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	7
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	20
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....	20
1.1 Распространение эймериидозов пушных зверей.....	20
1.2 Распространения кишечных паразитозов песцов и лисиц .....	29
1.3 Распространения арахноэнтормозов у пушных зверей .....	35
1.4 Патогенез и симптоматика инвазионных болезней пушных зверей .....	38
1.5 Изучение иммунитета при кишечных паразитозах пушных зверей .....	43
1.6 Изучение микробиоты пушных зверей и плотоядных, влияние на нее различных факторов.....	51
1.7 Лечебно-профилактические мероприятия при паразитозах пушных зверей .....	61
1.8 Девастация и дезинвазия при эймериидозах и гельминтозах .....	68
ГЛАВА 2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	73
2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	73
2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ .....	96
2.2.1 Паразитофауна пушных зверей в зверохозяйствах Северо-Западного региона РФ .....	96
2.2.1.1 Видовой состав возбудителей эймериоза и изоспороза норок в Ленинградской области .....	97
2.2.1.2 Видовой состав возбудителей эймериоза и изоспороза норок в Калининградской области .....	100
2.2.1.3 Морфологическая и биологическая характеристики эймериоза и изоспороза норок.....	108
2.2.1.4 Уточнение видового состава эймериид норок методом молекулярно-генетического исследования гена 18S рДНК .....	113
2.2.1.5 Видовой состав протозоозов и гельминтозов песцов в Северо-Западном регионе РФ.....	122
2.2.1.6 Видовой состав возбудителей эймериид и нематод лисиц.....	132

2.2.1.7	Морфологическая и биологическая характеристики выявленных видов эймериид и гельминтов у песцов и лисиц .....	141
2.2.1.8	Видовой состав возбудителей арахноэнтомозов пушных зверей и эпизоотическая ситуация по ним в Северо-Западном регионе РФ.....	147
2.2.2	Эпизоотическая ситуация по эймериидозам в звероводческих хозяйствах в Северо-Западном регионе РФ .....	152
2.2.2.1	Источники и факторы передачи инвазии в звероводческих хозяйствах .....	155
2.2.2.2	Сезонная и возрастная динамика кишечных паразитозов пушных зверей в Ленинградской и Калининградской областях.....	171
2.2.2.3	Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по эймериидозам норок в звероводческом хозяйстве .....	180
2.2.3	Изучение особенностей патогенеза при кишечных паразитозах пушных животных .....	187
2.2.3.1	Изменение товарных свойств волосяного покрова шкурок норок в зависимости от интенсивности инвазии эймериидозами .....	190
2.2.4	Изучение клинических и биохимических показателей крови при эймериидозах норок и у здоровых животных .....	200
2.2.5	Динамика клеточных факторов иммунной системы пушных зверей ..	203
2.2.6	Гуморальные факторы защиты и иммунобиологическая реактивность норок на фоне эймериидозов и специфической терапии.....	212
2.2.7	Динамика клеточных факторов иммунной системы песцов на фоне микстинвазии.....	222
2.2.8	Клинические признаки и патологоанатомические изменения при микстинвазии у песцов и серебристо-черных лисиц.....	226
2.2.9	Изучение патоморфологических изменений в тонком кишечнике норок при эймериидозах.....	230
2.2.10	Изучение патогистологических изменений в тонком кишечнике норок при кокцидиозах.....	231
2.2.11	Дифференциальная диагностика эймериидозов норок от болезней вирусной этиологии ИГХ методом .....	238
2.2.12	Изучение бактериального сообщества кишечника у клинически здоровых норок и на фоне эймериидозов.....	239

2.2.12.1	Оценка нормофлоры желудочно-кишечного тракта собак.....	241
2.2.13	Прижизненная диагностика эймериидозов и нематодозов плотоядных .....	266
2.2.13.1	Копрологическая диагностика паразитозов пушных зверей: источники ошибок первого и второго рода.....	277
2.2.13.2	Усовершенствование диагностики арахноэнтомозов пушных зверей .....	284
2.2.14	<b>ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ .....</b>	<b>287</b>
2.2.14.1	Сравнительное изучение острой токсичности препаратов «Стоп-кокцид», «Эймерм» и «Ваусох 5%».....	288
2.2.14.2	Изучение острой токсичности препарата «Эпримек».....	291
2.2.14.3	Изучение кумулятивных свойств препарата «Эпримек».....	293
2.2.14.4	Изучение субхронической токсичности препарата «Эпримек».....	297
2.2.14.5	Результаты дополнительных токсикологических исследований препарата «Эпримек».....	299
2.2.14.6	Изучение раздражающего, аллергического и сенсibilизирующего действия препарата «Эпримек».....	301
2.2.14.7	Определение острой токсичности препарата «Эмидонол 10%».....	304
2.2.14.8	Определение субхронической токсичности препарата «Эмидонол 10%» .....	306
2.2.14.9	Изучение кумулятивных, эмбриотоксических и тератогенных свойств препарата «Эмидонол 10%».....	309
2.2.14.10	Изучение раздражающих, кожно-резорбтивных свойств и дополнительных токсикологических исследований «Эмидонола 10%».....	314
2.2.14.11	Изучение алергизирующего действия «Эмидонола 10%».....	317
2.2.14.12	Переносимость и субхроническая токсичность препарата «Эмидонол 20%» на норках .....	319
2.2.14.13	Оценка антимикробной активности препарата «Азициклин» .	322
2.2.15	<b>ТЕРАПИЯ ПРИ КИШЕЧНЫХ ПАРАЗИТОЗАХ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ .....</b>	<b>324</b>



2.2.15.1	Изучение терапевтической эффективности кокцидиостатиков при эймериидозах пушных зверей .....	324
2.2.15.1.1	Лечебная эффективность препарата «Стоп-кокцид» на норках ....	325
2.2.15.1.2	Лечебная эффективность препарата «Стоп-кокцид» на песцах.....	327
2.2.15.1.3	Лечебная эффективность препарата «Стоп-кокцид» на лисицах ..	329
2.2.15.1.4	Лечебная эффективность препарата «Эйметерм 5%» на пушных зверях .....	331
2.2.15.1.5	Сравнительная эффективность различных кокцидиостатиков при эймериидозах норок.....	334
2.2.15.1.6	Экономическая эффективность применения кокцидиостатиков при эймериидозах пушных зверей .....	335
2.2.15.2	Изучение терапевтической эффективности антигельминтиков против гельминтозов пушных зверей .....	344
2.2.15.2.1	Лечебная эффективность антигельминтика «Эпримек» на песцах .....	345
2.2.15.2.2	Лечебная эффективность антигельминтика «Эпримек» на лисицах .....	347
2.2.15.2.3	Лечебная эффективность антигельминтика «Иверсан» на песцах .....	348
2.2.15.2.4	Применение антиоксиданта «Эмидонол 10%» на песцах и енотовидных собаках на фоне дегельминтизации.....	350
2.2.15.2.5	Экономическая эффективность применения антигельминтиков при нематодозах песцов и лисиц .....	351
2.2.15.3	Изучение терапевтической эффективности инсектоакарицидных препаратов у пушных зверей .....	353
2.2.15.3.1	Испытание акарицидных свойств диатомитового тонкодисперсного порошка на тест объектах – клещах <i>Dermanyssus gallinae</i> ...	355
2.2.15.3.2	Лечебная эффективность комплексного препарата «Иверсан» на песцах .....	359

2.2.15.3	Применение пробиотических и фитобиотических кормовых добавок у пушных зверей.....	360
2.2.15.3.1	Применение нового фитосорбционного комплекса при диарее у норок больных эймериидозами .....	361
2.2.16	КОМПЛЕКС МЕРОПРИЯТИЙ ПО БОРЬБЕ С КИШЕЧНЫМИ ПАРАЗИТОЗАМИ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ В ХОЗЯЙСТВАХ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РФ .....	364
2.2.16.1	Организационно-хозяйственные мероприятия .....	365
2.2.16.2	Биологические мероприятия .....	368
2.2.16.3	Специальные мероприятия.....	368
2.2.16.4	Девастация и дезинвазия звероводческих объектов.....	373
3	ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	377
4	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	394
5	РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ .....	400
	ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ПРАКТИКИ.....	401
	ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	403
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	405
	П Р И Л О Ж Е Н И Е .....	449

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Пушное звероводство – одна из наиболее рентабельных отраслей сельского хозяйства, однако это направление животноводства развито недостаточно в связи с целым рядом проблем. Одним из факторов, снижающих эффективность пушного звероводства, являются инвазионные болезни пушных зверей. Значительный ущерб этой отрасли наносят эндопаразитозы – протозойные и гельминтозные болезни, а также эктопаразитозы.

По мнению Берестова В.А. (2002), Герасимчика В.А. (2008) экономический ущерб от болезней паразитарной этиологии у пушных зверей может составлять от 25 до 38%, так как они являются одной из основных причин, ухудшающих качество пушнины, замедляющих рост молодняка и увеличивающих его отход. Также это затраты на приобретение противопаразитарных препаратов и повышенная конверсия корма среди больных животных [25, 37].

Тем не менее, шкурки пушных зверей ценятся и пользуются высоким спросом как в России, так и за рубежом. В условиях импортозамещения иностранных товаров, вступлением России в ВТО, отечественное пушное сырье должно быть конкурентоспособным и не только восполнять российские потребности, но и экспортироваться в другие страны мира. В связи с этим Правительством РФ была принята отраслевая целевая программа «Развитие клеточного пушного звероводства в Российской Федерации на 2013-2020 гг». «Целью данной программы является создание экономических и технологических условий для структурной перестройки отрасли пушного клеточного звероводства, а также восстановление объемов производства пушнины в пределах величины внутреннего спроса и экспортных возможностей России» и решения актуальных проблем социального развития села [18].

На территории Северо-Западного региона Российской Федерации зверохозяйства сосредоточены в Ленинградской и Калининградской областях. К наиболее ценным видам пушным зверей, хорошо приспособившихся к жизни в условиях неволи, относятся: норка *Neovison vison* (*syn.: Mustela vison*) Schreber, 1777; из семейства куньих, а также песец *Vulpes lagopus*, (*syn.: Alopex lagopus*) Linnaeus, 1758; и серебристо-черная лисица *Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758 из семейства псовых.

**Степень разработанности темы.** По данным отечественных и зарубежных авторов Калюжного С.И., (1999, 2000); Акимова С.А., (2000); Шаповалова А.В., (2004); Герасимчика В.А., (2004, 2008); Ждановой О.Б., (2007); Сафиуллина Р.Т. (2008); Дорошевой А.М., (2010); Кузнецова Ю.Е., (2012); Saeed I., Taira K., Kapel С.М. (2005), Saeed I., Maddox-Hyttel С., (2006), Solaiman Al-Sabia M.N., (2013), Petersen Н.Н. et al. (2018), инвазионные болезни имеют широкое распространение у различных видов пушных зверей и негативно сказываются на хозяйственно полезных признаках животных и товарную стоимость получаемой из них продукции [2, 38, 41, 63, 77, 83, 84, 109, 187, 216, 357, 350, 358, 365].

Однако изучение данной проблемы в условиях Северо-Западного региона полноценно не проводилась уже более 15 лет. Есть скудные сведения по распространению протозоозов и гельминтозов у плотоядных животных в Республике Карелия, на остальной же территории региона данная тема, по-прежнему, недостаточно изучена [5]. «Так, остаются вопросы по распространению инвазионных болезней пушных зверей, вызываемых паразитическими простейшими родов *Eimeria*, *Isospora*, цестодами – *Diphyllobothrium*, нематодами – *Toxascaris* и *Toxocara*» [109], а также эктопаразитами – *Sarcoptes*, *Otodectes*, *Ctenocephalides*, адаптировавшихся к различным климатогеографическим условиям. Это подтверждается исследованиями многих ученых [25, 52, 74, 171, 183, 185, 360 и др.] доказывающих, что в последние годы актуальными для звероводства являются

такие болезни, как токсаскаридоз, токсокароз, дифиллоботриоз, эймериоз, изоспороз, отодектоз и саркоптоз.

Вопросы патогенеза данных болезней, а также роли и влияния микробиоты животных на паразитов и на организм хозяина, остаются до конца неизученными и дискуссионными. В нашей стране имеются единичные публикации по изучению состава микробного сообщества кишечника плотоядных (Панин А.Н., Малик Н.И., Малик Е.В., (1998), Субботин В.В., Данилевская Н.В., (2012)). Однако зарубежные исследователи, такие как Vulfson et al., (2001, 2003); Williams et al., (1998), Kasiraj et al. (2016), Kohl et al. (2014), Sonojama et al. (2009), Compo N.R. (2018), довольно широко изучают механизмы взаимодействия во всех биосистемах [159, 201, 261, 312, 316, 367, 380, 381, 387].

Изучению протозоозов, гельминтозов и арахноэнтомозов пушных зверей посвящены многочисленные работы российских и зарубежных ученых [75, 169, 204, 221, 228, 249, 315, 350]. Ряд других исследований направлены на изучение и обобщение эпизоотической ситуации по паразитозам пушных зверей в различных регионах РФ [12, 63, 146, 147, 178, 205].

Вследствие снижения товарных свойств и качества шкурок пушных зверей из-за инвазионных болезней, перед учеными стоят задачи совершенствования мер диагностики и борьбы с паразитами. Белова Л.М., Гаврилова Н.А. с соавт. (2012), Герасимчик В.А. (2008) предложили новые методы диагностики и борьбы с болезнями паразитарной этиологии [22, 23, 37].

Проблеме развития иммунитета при паразитозах посвящены работы целого ряда исследователей [55, 85, 126, 149, 224], однако вопросы изменения естественной резистентности при паразитозах и на фоне применения новых лекарственных препаратов остается актуальной задачей.

В настоящее время главным средством в борьбе с паразитами животных является дегельминтизация, однако на обработку животных против

простейших и эктопаразитов уделяется недостаточное внимание. Профилактика, направленная на предупреждение заражения животных яйцами и личинками гельминтов, а также ооцистами простейших и паразитическими членистоногими, является другим, не менее важным, звеном в цепи противопаразитарных мероприятий.

«За последние годы Российская ветеринарная фармацевтическая промышленность активно развивается, появляются новые лекарственные средства, что помогает провести импортозамещение дорогостоящих иностранных препаратов качественными отечественными кокцидиостатиками и антигельминтиками. Ведутся работы по созданию иммуномодуляторов и других групп препаратов, которые обладают хорошим терапевтическим действием, при этом они значительно дешевле аналогов зарубежного производства, поэтому их применение для лечения и профилактики болезней пушных зверей становится более доступным и эффективным» [109].

Тем не менее, паразиты обладают приспособительными свойствами к условиям окружающей их среды. Способность паразитов адаптироваться к тем или иным препаратам приводит к необходимости изыскания новых, более эффективных средств терапии и профилактики инвазионных болезней. В связи с этим, перед учеными стоят задачи по разработке новых лекарственных средств, направленных на борьбу с ними [67, 110, 174, 225].

Несмотря на многочисленные исследования в отечественной и зарубежной литературе, многие вопросы по распространению паразитов, видовому составу, профилактике и лечению животных в конкретных климатических зонах остаются недостаточно изученными. Зараженность животных различными паразитами, а также применение препаратов, направленных на избавление организма от них, способствуют снижению естественной резистентности животных и повышению их восприимчивости к новым инвазиям.

«Оздоровление хозяйств, снижение экономических потерь возможно

только при комплексном научно-обоснованном подходе к решению данных проблем. Так, при разработке и проведении комплекса лечебно-профилактических мероприятий, необходимо учитывать распространение паразитов, экстенсивности и интенсивности инвазии, сезонности и возрастной динамики, изучение особенностей патогенеза, влияние внутреннего микробиоценоза на организм животного в целом, применении новых кокцидиостатиков, антигельминтиков, инсектоакарицидов и иммуномодуляторов. На основании вышесказанного следует, что исследования в данной области являются актуальной задачей» [109], поэтому решение комплекса проблем, стоящих перед нами, послужило основой выбора направления данного научного исследования.

**Цель и задачи исследований.** Цель исследования заключается в комплексном изучении эпизоотической обстановки по паразитарным болезням пушных зверей в Северо-Западном регионе Российской Федерации, усовершенствованию способов диагностики болезней и разработке эффективных схем лечебно-профилактических мероприятий.

Для достижения указанной цели перед нами были поставлены следующие задачи:

- выявить паразитофауну пушных зверей в условиях звероводческих хозяйств Северо-Западного региона;
- изучить распространение, сезонную динамику, возрастные аспекты, породную предрасположенность при паразитозах пушных зверей в условиях Северо-Запада России;
- определить особенности патогенеза при кишечных паразитозах пушных животных;
- изучить естественную резистентность и иммунный статус у больных кокцидозами и здоровых пушных зверей;
- изучить микробиоценоз кишечника здоровых животных, а также на фоне заражения эймериидозами;

- усовершенствовать способы прижизненной лабораторной диагностики при паразитарных болезнях пушных зверей;
- провести доклинические и клинические испытания противопаразитарных препаратов, изучить их терапевтическую эффективность;
- рассчитать экономическую эффективность испытанных препаратов и разработать комплекс мероприятий по оздоровлению поголовья зверохозяйств.

**Научная новизна работы.** На основании мониторинга эпизоотической ситуации по паразитарным болезням в звероводческих хозяйствах Северо-Западного региона РФ за период 2012-2019 гг. установлен видовой состав паразитофауны у пушных зверей.

Впервые выявлен вид изоспор – *Isospora evermanni* ранее не встречавшийся в условиях изучаемого региона.

Молекулярно-генетическим исследованием гена 18S рДНК уточнен видовой состав эймериид у норок.

Проведен ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по эймериидозам норок в звероводческом хозяйстве Ленинградской области.

Изучена сезонная и возрастная динамика эймериидозов, гельминтозов арахноэнтомозов в условиях зверохозяйств, находящихся в Ленинградской и Калининградской областях.

Определены гуморальные факторы защиты и иммунобиологическая реактивность норок на фоне эймериидозов и специфической терапии.

Новизна работы подтверждена разработанными и запатентованными методами, устройствами для усовершенствования прижизненной диагностики, а также способа лечения животных:

– «Жидкость для диагностики ооцист кокцидий, цист балантидий и жиадий, яиц гельминтов разных классов, клещей и насекомых, их отдельных стадий развития», патент RUS № 2472154, зарегистрированный в



Государственном реестре изобретений РФ от 10 января 2013 г.

– «Устройство для взятия соскоба с кожи животного» Патент на полезную модель RUS № 166382, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ от 02 ноября 2016г.

– «Усовершенствованное устройство для взятия соскоба с кожи животного» патент на полезную модель RUS № 170610, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ от 02 мая 2017г.

– «Устройство для сбора личинок и мелких нематод из фекалий животных, и человека» патент на полезную модель RUS № 191895, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ от 26 августа 2019 г.

– «Чашка Петри» патент на полезную модель RUS № 180046, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ от 31.05.2018 г.

– «Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных», патент на изобретение RUS № 2568906 зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ от 23 октября 2015 г.

Молекулярно-генетическим методом проведено изучение генов 16S рРНК содержимого тонкого кишечника норок, установлено влияние эймериид на микробиоценоз животных.

Проведены доклинические испытания препаратов разных фармакологических групп: кокцидиостатик – «Стоп-кокцид»; антигельминтик – «Эпримек» антиоксидантного препарата – «Эмидонол 10%».

Клиническими испытаниями препаратов: кокцидиостатиков – «Стоп-кокцид», «Эймертерм суспензия 5%», «Ваусох 5%»; системных антигельминтиков – «Эпримек», «Иверсан», антибактериального препарата – «Азициклин», антиоксидантного препарата – «Эмидонол 10%»;

инсектоакарицидного средства на основе диатомитового тонкодисперсного порошка, а также фитобиотической кормовой добавки.

Результаты исследований легли в основу изменений в инструкции по применению данных препаратов, а также были использованы для регистрации их в Россельхознадзоре.

На основе полученных результатов с учетом особенностей эпизоотической ситуации по паразитофауне пушных зверей изучаемого региона разработаны, а также предложены для практического применения схемы лечения плотоядных животных при паразитарных болезнях в звероводческих хозяйствах Северо-Западного региона РФ.

**Теоретическая и практическая значимость.** Диссертационное исследование расширяет теоретическое представление о патогенном влиянии паразитов на организм пушных зверей. Результаты проведенных морфологических, биохимических, иммунологических, микробиологических, а также молекулярно-генетических исследований представляют теоретический интерес, так как на основании их предложены меры борьбы и профилактики с паразитами пушных зверей.

Проведенный мониторинг эпизоотической ситуации в зверохозяйствах Северо-Западного региона в период с 2012 по 2019 гг., продемонстрировал новые данные по экстенсивности и интенсивности инвазии при инвазионных болезнях пушных зверей, сезонной и возрастной динамики, составу паразитофауны норок, песцов и лисиц в Ленинградской и Калининградской областях.

Разработанные способы и средства используются практикующими ветеринарными врачами для комплексной терапии и профилактики инвазионных болезней в зверохозяйствах РФ.

Результаты диссертационной работы внедрены в учебном процессе при изучении дисциплины «Паразитология и инвазионные болезни» на кафедре паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора

С.Н. Никольского ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», на кафедре инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья.

**Методология и методы исследования.** Методологические подходы в решении задач основаны на особенностях жизненного цикла возбудителей паразитарных болезней, проявления эпизоотического процесса при протозоозах, гельминтозах и арахноэнтомозов в условиях различных климатических зон исследуемого региона. При выборе методов исследований и анализе полученных результатов учтены вид, возраст, окраска животных, условия содержания и кормления, вероятные контакты с источниками и переносчиками возбудителей, значение факторов передачи и распространения инвазионного начала. Объектом исследования служили: норки, песцы, серебристо-черные лисицы и собаки.

Для проведения исследований использовали следующие методы:

- паразитологические – копрологические флотационные методы;
- микроскопические – использование светового микроскопа с целью определения вида паразита на разных фазах развития;
- иммунологические – изучение неспецифических клеточных и гуморальные факторов;
- микробиологические – бактериологический и микроскопический методы;
- молекулярно-генетический методы – анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (Terminal restriction fragment length polymorphism T-RFLP-анализ), полимеразная цепная реакция (ПЦР), секвенирование;
- гистологический – изучение гистологических срезов с целью установления патоморфологических изменений;
- фармако-токсикологические – доклинические и клинические исследования, изучение безвредности и эффективности действия препаратов на организм лабораторных и плотоядных животных;

- статистические – обработка полученного цифрового материала с использованием метода вариационной статистики и применением критерия погрешности по Стьюденту на компьютере с использованием лицензированного программного обеспечения, применяемого в биологических, медицинских и ветеринарных исследованиях.

#### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту.**

1. В ходе исследования установлена паразитофауна пушных зверей в Северо-Западном регионе РФ. Видовой состав эймериид подтвержден результатами молекулярно-генетического исследования гена 18S рДНК норок. Впервые выявлен вид изоспор – *I. eversmanni* ранее не встречавшийся в условиях изучаемого региона.
2. Мониторингом эпизоотической ситуации установлено: широкое распространение, а также факторы, влияющие на него, высокая экстенсивность и интенсивность инвазии, сезонно-возрастная динамика паразитарных болезней пушных зверей в Ленинградской и Калининградской областях.
3. Для усовершенствования прижизненной диагностики эндо- и эктопаразитов, а также лечения животных предложены устройства и способы, защищенные патентами (Пат. №2472154 от 10.01.2013 г.; Пат. №166382, от 02 ноября 2016г.; Пат. № 170610, от 02 мая 2017г.; Пат. № 191895, 26 августа 2019 г.; Пат. № 180046, 31.05.2018 г.; Пат. № 2568906 от 23 октября 2015г., которые характеризуются высоким уровнем технического решения задачи усовершенствования способов прижизненной лабораторной диагностики при паразитарных болезнях и лечения пушных зверей.
4. Гистологическими исследованиями установлено, что даже при низкой ИИ эймериидозами норок происходит нарушение целостности слизистой оболочки кишечника на гистологическом уровне, а при высокой ИИ в процесс полиморфной клеточной инфильтрации вовлекается как собственная и мышечная пластины, так и подслизистая основа кишечника.

5. Молекулярно-генетическим методом изучения гена 16S рРНК содержимого тонкого кишечника норок, установлено влияние представителей семейства Eimeriidae на микробиоценоз пушных зверей.
6. Результаты проведенных фармако-токсикологических испытаний и изучения эффективности антигельминтиков, противопротозойных, инсектоакарицидных препаратов, иммуномодуляторов и фитобиотиков при паразитозах пушных зверей, дают возможность разработки лечебно-профилактических мероприятий в звероводческих хозяйствах и применения их на практике.
7. Рассчитана экономическая эффективность предлагаемых лечебно-профилактических мероприятий при проведении обработок животных больных инвазионными болезнями.

**Апробация работы.** Научное направление, методическая основа и результаты исследований доложены и обсуждены на научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава ФГБОУ ВО СПбГАВМ (Санкт-Петербург, 2012-2019), на VI и XIII научно-практической паразитологической конференции памяти профессора В.А. Ромашова «Современные проблемы общей и прикладной паразитологии» (Воронеж, 2012, 2019), 15th International medicine students scientific research congress, (Turkey, Istanbul, 2013), на XXII международной конференции АгроРусь «Перспективы развития агропромышленного комплекса России в условиях членства в ВТО», (ЛЕНЭКСПО) - (Санкт-Петербург, 2013), на научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями», ВИГИС, (Москва, 2013, 2015), на 5-й международной научно-практической конференции аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения (Ульяновск, 2013), на V Международной научно-практической конференции «Научно-техническое творчество молодежи – путь к обществу, основанному на знаниях» НТТМ, ВВЦ, (Москва, 2013), на IV съезде фармакологов и токсикологов России «Актуальные

проблемы ветеринарной фармакологии, токсикологии и фармакологии» (Санкт-Петербург, 2016), на II-ом Международном Ветеринарном Конгрессе VETistanbul Group (Санкт-Петербург, 2015), на XIV Международной научной конференции «Современная наука: актуальные проблемы и пути их решения» (Липецк, 2015), Международном конгрессе «АгроРусь» (Санкт-Петербург, 2012, 2016), I, II-й Международном паразитологическом форуме (Санкт-Петербург, 2015, Зоологический институт РАН, 2017), на XIX Международной летней конференции по клеточному пушному звероводству (Ставрополь, 2018), на семинаре «Тенденции развития клеточного пушного звероводства в современных условиях» (Московская область, 2019), на Международной научно-практической конференции «AgroSMART – Умные решения для сельского хозяйства», (Тюмень, 2019), III-ем Международном паразитологическом форуме посвященного 100 летию кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова (Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины; Зоологический институт РАН, 2019).

В 2013 году научный проект «Новая диагностическая жидкость Флотан» на выставке Научно-технического творчества молодежи (НТТМ) отмечен медалью ВВЦ «За достижения в науке и технике» (Приложение А).

**Достоверность полученных результатов** подтверждается использованием репрезентативной выборки объектов исследования, которая соответствует целям и задачам данной научно-квалификационной работы, применением современных эпизоотологических, паразитологических, клинических, фармакологических, хроматографических, молекулярно-генетических методов исследования и сертифицированного оборудования, соответствующих компьютерных программ обработки и анализа данных, достаточным объемом фактического материала, обработанного с помощью методов статистики, применяемых в биологических исследованиях; публикацией результатов работы в рецензируемых журналах, в том числе из международных баз данных.

**Личный вклад автора** состоит в отборе проб, проведении диагностических, паразитологических, гематологических, иммунобиологических, доклинических и клинических исследований. Автор осуществлял постановку и выполнение экспериментов, анализ и интерпретацию полученных результатов, участвовал в написании статей, патентов, подготовке докладов и выступлениях на конференциях, а также в апробации производственных результатов. Часть исследований и публикаций проведены и написаны в соавторстве. Соавторы научных публикаций не имеют возражений против использования в диссертации материалов совместных исследований, что подтверждено справками.

**Публикации.** По материалам диссертационной работы опубликовано 36 печатных работ, в том числе 13 статей в журналах, внесенных в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК при Минобнауки России, 4 статьи в журналах из международных баз данных (Web of Science Core Collection) и (Scopus), а также 6 патентов.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 496 страницах компьютерного текста, включает в себя введение, обзор литературы, основную часть, заключение, список сокращенных терминов, список использованной литературы и приложения, иллюстрирована 112 рисунками, 76 таблицами. Список использованной литературы включает 391 источник, из них 159 на иностранных языках.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

#### 1.1 Распространение эймериидозов пушных зверей

Протозоозы (от лат. *protozooses*) – это болезни, вызываемые паразитическими простейшими, причиняющими значительный экономический ущерб. К ним относятся и споровики – эймериидные кокцидии (эймерии и изоспоры), паразитирующие у различных видов птиц, млекопитающих и земноводных [9, 17, 33, 39, 60, 92, 96, 144, 152, 157, 189, 198, 206, 211, 212, 214, 230, 232, 243, 244, 257, 265, 285, 298, 315, 325, 348, 349].

«По современным данным эймериидные кокцидии относятся к царству Protista (Haeckel, 1866), типу Apicomplexa (Levine, 1970), syn. Sporozoa (Leuckart, 1879), классу Sporozoa (Leuckart, 1879), syn. Coccidea (Leuckart, 1879), подклассу Coccidia (Leuckart, 1879), syn. Coccidiomorpha, (Doflein, 1901), отряду Coccidiida (Leuckart, 1879; Labbe, 1899), подотряду Eimeriina (Eimeriidae) (Leger, 1911), семейству Eimeriidae (Munchin, 1903), подсемействам – Eimeriinae (Wenyon, 1926) и Isosporinae (Schneider, 1881), родам *Eimeria* (Eimer, 1870; Schneider, 1875) syn. *Coccidium* (Leuckart, 1879) и *Isospora* (Schneider, 1881)» [15-17, 37, 96, 109, 212, 227, 325].

Возбудители класса Sporozoa могут вызывать различные болезни человека и животных, поэтому изучение их имеет практическую значимость [15, 95, 226].

Все виды рода *Eimeria* – моноксенные паразиты, развиваются в организме одного хозяина, претерпевая стадии мерогонии и гаметогонии, а затем выделяются во внешнюю среду, как правило, в неспорулированном виде [96]. Паразитические виды рода *Isospora* имеют более сложные моно- и гетероксенные циклы развития [39, 95, 153]. Эймерии и изоспоры обладают двойственной специфичностью. Под специфичностью паразита подразумевается эволюционно сложившаяся, обусловленная факторами среды



приспособленность его к определенному кругу хозяев, локализации в организме хозяина, к определенному возрасту специфического хозяина и не редко, к определенному сезону паразитирования в нем [109, 157]. Так, у данных паразитов она заключается, во-первых, в паразитирование у специфического для данного возбудителя хозяина, во-вторых, локализации в строго определенных участках слизистой оболочки тонкого и толстого кишечника, реже в эпителиальных клетках других органов [39, 95, 153].

К настоящему времени паразитирование эймерий установлено у значительного количества видов животных [257].

Имеется много научных работ, посвященных изучению эймериидозов различных домашних и диких животных как у нас в стране, так и за рубежом [9, 11, 15, 17, 35, 80, 92, 144, 154, 157, 189, 198, 203, 212, 222, 230, 232, 234, 235, 239, 256, 273, 348, 349, и др.].

По данным ряда авторов: «Спорогония эймерий в оптимальных условиях протекает 18-48 часов. В результате спорогонии в ооцистах развивается 4 споры размером 8-11 мкм, содержащие по 2 спорозоида. Эндогенное развитие происходит в слепых отростках и в других участках кишечника. В желудочно-кишечном тракте цыпленка вышедшие из ооцист спорозоида поражают эпителиальные клетки крипт. В них через 24-48 часов заканчивается развитие меронтов (шизонтов) первой генерации» [12, 92].

На территории бывшего Советского Союза изучению видов эймерий и изоспор норки посвящены немногочисленные исследования [37, 151, 153, 155, 171, 188, 189, 228].

Эймериидозы являются самыми распространенными протозойными паразитарными болезнями в звероводческих хозяйствах и встречаются повсеместно [4, 75, 169, 186, 206, 230].

К эймериозам наиболее восприимчив молодняк норки 2-3 мес. возраста, зараженность которого достигает до 68% [3, 155, 173, 186, 309, 315, 339, 372].

Noare С.А. в Англии (1921), у хорька обнаружил 3 новых вида простейших, они принадлежали двум родам *Eimeria* – *E. ictidea*, *E. furonis* и *Isospora* – *I. laidlawi*, эти же виды позже описал Lewine N.D. [324].

Taggart Н.С. (1960), в Великобритании установил, что причиной массового падежа норок в одном из хозяйств, стали эймерии и изоспоры. При вскрытии животных он обнаружил *E. vison* и *I. laidlawi* [372].

Hansen К.В. (1933) впервые выявил патогенность изоспор для животных, обнаружив в одном из хозяйств Германии *I. bigemina*, которая вызывала массовый падеж у норок [299].

В 1959 году Zimmermann Н.С., обследуя 5 звероферм в Германии, у 21% норок, обнаружил два вида эймерий: *E. melis* и *E. vison*. Однако Pellerdy L.P., позже изучая работы Zimmermann Н.С., усомнился в правильности выводов последнего [348].

Wolter R., спустя три года, так же, как и Zimmermann Н.С., проводил исследования в хозяйствах Германии, при исследовании более чем 452 тушек павших норок у 2,0% были обнаружены эймерии, и у 3,3% изоспоры. При исследовании фекалий у животных, в тех же хозяйствах, у 2,94% были обнаружены эймерии, у 2,86% изоспоры, однако до вида возбудителей ученый не стал уточнять [388].

В печени у норок впервые кокцидий обнаружил Devis С.L. et al. [266]. Гистологически, исследуя печень больных норок, они обнаружили, формы кокцидий в процессе мерогонии, поэтому установить точные виды паразитов не смогли.

Grafter G. с соавторами, описали новый вид эймерий, получивший название – *E. hiepei*, ооцисты имели округлую форму и локализовались в печени [294].

Levine N.D. (1948) в США, также обнаружил *I. bigemina* у норки в ходе копрологических исследований и подробно описал данного возбудителя [39, 109]. Им же описано еще два вида кокцидий, которые отличались друг от друга

формой и размером, по описанию они больше всего схожи с *I. laidlawi* и *E. mustelae* [324].

Jolley W.R. et al. (1994) в Штате Вайоминг обнаружил три вида ооцист рода *Eimeria*, которые были найдены в фекалиях и кишечном содержимом черноногих пестрых хорьков (*Mustela nigripes*). Меронты и ооцисты одного из видов кокцидий были обнаружены в дыхательных путях; мерозоиты неопознанного вида были на стенке мочевого пузыря и были видны гистологически и в мазках. На основании морфометрии ооцист два кишечных вида эймериид были идентифицированы как *E. ictidea* и *E. furonis*. Третий вид кишечных кокцидий, обнаруженный в респираторной системе и мочевом пузыре, идентифицировать не удалось. Среди других обнаруженных паразитов были найдены *Giardia sp.* и *Physaloptera sp.* Все паразиты были впервые описаны у данного вида хозяина [310].

Oldfield J.E. (2005) проводил исследование норок на наличие кишечных простейших в трех штатах на северо-западе США. Количество ооцист варьировалось от 15 до нескольких тысяч на г фекалий. В образцах были обнаружены три различных вида кокцидий: *E. vison*, *E. laidlawi* и *E. mustelae* [344].

William B.H. (1996) в своей работе описывает первый случай «желчного» кокцидиоза хорька, у которого в эпителии желчных протоков печени и желчного пузыря присутствовали меронты, гаметоциты и ооцисты. По морфологическим характеристикам организмы были идентифицированы как *Eimeria sp.*, по мнению автора, это, скорее всего, был вид *E. furonis* [386].

Klopfer U. (1970) сообщает, что им были обнаружены три вида – *I. laidlawi*, *E. vison*, *E. meli*, в нескольких зверохозяйствах Израиля [315].

Среди стран ближнего зарубежья, системное изучение эймериидозов животных проводилось в Казахстане [188, 189]. Большой вклад в изучение кокцидий пушных зверей в Казахстане, внесли Сванбаев С.К., Рахматуллина Н.К., Нукербаева К.К., Иркатанова М.А., Утебаева М.К., Салимбаева Б.М.

Так, Сванбаевым С.К., у норок, разводимых в неволе, обнаружено 4 вида кокцидий, три ранее известных: *E. vison*, *E. furonis*, *I. laidlawi*, а один – *I. evermanni* (Svanbaev, 1956) был описан ученым впервые [152, 188].

По данным Нукербаевой К.К., Сванбаева С.К. (1973) у песцов в Казахстане зарегистрированы 6 видов кокцидий – *I. canivevelocis* (Weidman, 1915), *I. vulpina* (Neischulz et Bos, 1933), *I. buriatica* (Yakimoff et Matsculski, 1940). Позже еще 3 вида у пушных зверей в хозяйствах Казахстана: *I. triffity*, *I. pavlodarica*, *E. imantauica* [80, 155, 156, 188, 189, 207].

В Республике Беларусь изучением кокцидиозов пушных зверей занимались такие ученые, как Ятусевич А.И., Полоз С.В., Якубовский М.В., Кузовлева Л.В., Кирдун С.В., Герасимчик В.А.

Полоз С.В., Якубовский М.В. (2000) изучили эпизоотическую ситуацию по гельминтозам и протозоозам пушных зверей в 12-ти звероводческих хозяйствах республики Беларусь, с разным количеством голов животных. Результаты исследований показали, что у 202 (26,37%) из 766 норок в данных хозяйствах, были обнаружены ооцисты эймерий и изоспор. У молодняка и взрослых норок выявлены 3 вида кокцидий: *E. vison*, *E. furonis*, *I. laidlawi* [41, 173].

Кирдун С.В. (2000) считает, что в Республике Беларусь, наиболее восприимчив к гельминтозам и протозоозам молодняк норок 2-х месячного возраста у которых экстенсивность инвазии (ЭИ) достигла 39,5% при интенсивности инвазии (ИИ) от 0 до 500 ооцист в п.з.м., при увеличении 8x10, у самок норок в летний период – 12,5%, в осенний – 8,4, зимний – 12,2, в весенний – 12,2%, у самцов норок, соответственно, 9,4; 2,1; 3,1; 5,8% [89].

Герасимчик В.А. (1996, 2006) обследовал 24 звероводческих хозяйства республики Беларусь и выявил у норок 2 рода кокцидий: *Eimeria* – *E. vison* (Kingscote, 1934), *E. furonis* Hoare, 1927 и *Isospora* – *I. laidlawi* Hoare, 1927, *I. evermanni* (Svanbaev, 1956). Наиболее распространенным видом из них является *E. vison* (57,2% от зараженных животных), который был обнаружен

во всех 17-ти обследованных звероводческих хозяйствах. На втором месте по распространенности стоит вид *I. laidlawi* (35,7%), выявленный в основном у молодняка норок 1,5-4 месячного возраста. Вид *E. furonis* (6,58%), обнаружен лишь в 9-ти из 17 обследованных хозяйств. Исследователю впервые удалось обнаружить вид *I. evermanni* в трех хозяйствах на территории Беларуси, ранее обнаруженных в республике Казахстан. Также им отмечена возможность возбудителей кокцидиидозов протекать в форме микстинвазий – зараженность животных одновременно несколькими видами паразитов было установлено у 5,9% животных [37, 39].

В нашей стране также было уделено внимание изучению эймериидозов пушных зверей.

Вершинин И.И. (1972) в зверохозяйствах Центрального Урала у норок обнаружил три вида эймериид: *E. vison*, *E. furonis*, *I. laidlawi*. Последний вид встречался чаще всех остальных [34].

Одно из самых крупных исследований простейших у пушных зверей были проведены в республике Карелия Аникановой В.С. (1991). По ее данным разнообразие эймериидозов норок в зверохозяйствах республики доминирующим видом у норок является – *I. laidlawi* (60%): он встречается у животных разных возрастных групп. У взрослых зверей болезнь протекает в виде моноинвазии, а у молодняка норок болезнь в 59% случаях имеет характер микстинвазии и протекает в виде ассоциации двух видов *E. vison* и *I. laidlawi*. Вид *E. furonis*, отмечает автор, крайне редкий для зверохозяйств Карелии и встречается лишь спорадически [3].

Умурзаков М.Д., Коновалов А.П., Сапожникова А.И., и др. (2013), изучая паразитофауну пушных и других плотоядных зверей в условиях хозяйств центральных областей Нечерноземья и Волго-Вятского региона, обследовали 234 животных, 6 видов из семейства Mustelidae (куньи): американская норка (*Mustella lutreola*) – 158, соболь (*Martes zibellina*) – 38, хорек (*Mustella putorius*) – 32, куница-харза (*Martes flavigula*) – 2, каменная

куница (*M. foina*) – 2, россомаха (*Gulo gulo*) – 2. Из патогенных простейших учеными были выявлены 3 вида: *Cystoisospora vulpine*, *C. canivelocis* и *C. landlawi*, которые преобладали у всех видов животных [205].

Сафиуллин Р.Т. (2008) проводил обследование пушных зверей в хозяйствах Московской области в условиях зверохозяйства «Салтыковское». Обследованные норки были заражены простейшими меньше, чем песцы и лисицы. Так, молодняк 1-3 и 3-6-месячного возраста был инвазирован изоспорами на 16,2 и 12,7, а взрослые – на 11,5 %. Зараженность эймериями у норок разного возраста составила 7,3-15,3 % [187].

Дорошева А.М. (2010) изучала видовой состав паразитов у 200 норок в условиях зверохозяйств Московской, Тверской и Смоленской областей. Паразитофауна была представлена одним видом *I. landlawi*. Из обследованных 206 норок оказались зараженными 5, экстенсивность инвазии (ЭИ) составила – 2,5% [63].

«У норок (*Mustela vison*) в звероводческих хозяйствах Ленинградской области в период с 2009-2012 гг. были проведены исследования эпизоотической ситуации, в результате чего были выявлены два вида эймерий – *E. vison*, *E. furonis*, один вид изоспоры – *I. landlawi*. Наиболее часто у молодняка норок регистрировалась *I. landlawi*, у взрослого поголовья старше 8-ми месяцев встречался вид *E. vison*. При этом у взрослых животных старше 8-ми месяцев преобладала моноинвазия, которая была зарегистрирована в 75,51% случаев, а у 24,49% установили микстинвазию с сочетанием двух паразитов у 21,82% и трех у 2,67%» [109].

Hammer, A.S., Andersen, T.H., Dietz, H.H. (2004) изучали образцы фекальных масс норок (n=307), доставленные в лабораторию из Норвежских ферм. Исследования были проведены в период с января по октябрь 2004 года. Кроме того, образцы фекалий были взяты у 28-ми норок из трех благополучных по паразитарным болезням хозяйств в июне 2004 года. Ооцисты кокцидий были обнаружены в образцах фекалий 20,9% норок,

включенных в это исследование (n=335). В двух из трех ранее благополучных по паразитарным инвазиям ферм в 35-50% проб были обнаружены ооцисты. Среди них наиболее часто регистрировались *Isospora spp.* Этот вид был найден в образцах фекальных масс от 42 норок (12,5%). *Eimeria spp.* были обнаружены в образцах от 25 норок (7,5%) и *Cryptosporidium spp.* – от 4 норок (1,2%). Результаты подтверждают высокую распространенность кокцидиозной инвазии у животных на фермах Норвегии. Кокцидии регистрировались в течение всего периода исследования с января по октябрь (за исключением апреля), распространенность показала значительные сезонные колебания. Пиковый процент зараженных животных был обнаружен в июле у 65% обследованных норок. «Применительно к анамнезу болезни и окончательному диагнозу результаты не подразумевают, что кокцидии являются существенной причиной диареи или другого клинического заболевания у норок, но они могут иметь влияние как осложняющий фактор при других болезнях» [297].

Molenaars R.J., Yorna I. (2015) были проведены исследования эпизоотической ситуации по кокцидиозам норок на шести голландских фермах, занимающихся разведением норок, в 20 случайных пробах фекалий в первую неделю июня 2015 г. Образцы были взяты от самок норок и их потомства. Количество ооцист на г фекального материала определяли флотацией с использованием метода Мак Мастера с сульфатом цинка ( $ZnSO_4$ ). Ооцисты паразитов были обнаружены у 61% обследуемых животных, количество выделяемых ооцист в 1 г фекалий варьировались в диапазоне от 107 до 2005. Средний показатель у больного молодняка норок составил 1540 ооцист в 1 г фекальных масс. После культивирования по морфологии удалось установить, что ооцисты соответствовали *E. vison* – известному кишечному патогену норок. Высокая распространенность на фермах Голландии и высокая ИИ у молодняка норок указывают на то, что эймериоз является возможной проблемой для здоровья щенков норок и осложняет течение при других кишечных болезнях у данного вида животных [304].

Petersen H.H. et al. (2018) в период с апреля по октябрь 2016 г. проводили обследование 30 датских ферм по разведению норок, чтобы определить распространенность и виды эймериид, паразитирующих в данном регионе. Из 4140 обследованных животных зараженными оказалось 108 с ЭИ 2,6%. Морфологический анализ спорулированных ооцист (n=20) позволил выявить, что данные ооцисты являются представителями рода *Eimeria*. Размеры ооцист 21,0×13,8 мкм с отношением длины к ширине (L/W) – 1,5. Филогенетический анализ последовательностей 18S рРНК (1221 п.н.) полученных образцов от трех зараженных норок показал, что *E. vison* – это тот вид, обладающий наибольшим генетическим сходством с *Eimeria sp. ex Apodemus agrarius* впервые выделенного из полосатой полевой мыши (*A. agrarius*) в Чешской Республике. Анализ более короткой области 18S (531 п.н.) показал, что последовательности генотипа *E. vison* имеют сходство на 97,7% с другим видом *E. furonis* [350]. Полученные Petersen H.H. et al. (2018) данные могут свидетельствовать о том, что *E. vison* и *E. ictidea*, могут быть одним видом, так как они имеют высокое морфологическое и генетическое сходство.

«Интерес среди ученых, как в нашей стране, так и за рубежом к изучению паразитических простейших, свидетельствуют о широком распространении болезней. Различные виды паразитов простейших обладают разной степенью патогенности, иммуногенностью и чувствительностью к различным лекарственным препаратам, поэтому определение видового состава паразитов имеет важное значение» [120].

На сегодняшний день у норок известно 7 видов эймерий и 3 вида изоспор [38, 109, 120, 173].

Однако многими учеными Pastor A.R. (2017), Petersen H.H. et al. (2018) существование некоторых из них как самостоятельных видов ставится под сомнение. В связи с этим, молекулярно-генетические исследования позволяют с высокой достоверностью решить вопрос о таксономической самостоятельности того или иного вида эймериид [345, 350].



## 1.2 Распространения кишечных паразитозов песцов и лисиц

При проведении обследования более 1,5 тысяч проб фекалий от серебристо-черных лисиц, Герасимчик В.А. (2008) обнаружил, что: «у них паразитируют представители рода *Isospora* и *Eimeria*. Смешанная инвазия составила 4,46%, причем она отмечалась только у самок» [37].

Этот же автор установил, что в Республике Беларусь самая высокая «ЭИ и ИИ у песцов отмечены в летние месяцы (31,84%): у взрослых – (ЭИ 23,91% и ИИ 1-20 экз.), у молодняка – (ЭИ 50,8 и ИИ 1-100 экз.), а минимальные ЭИ и ИИ наблюдалась у взрослых песцов весной (ЭИ 11,26% и ИИ 1-20% экз.), а у молодняка – осенью (ЭИ 32,2% и ИИ 1-16 экз.)» [37].

Ромашова Е.Н. (2012) при исследовании диких плотоядных выявила, что у лисиц паразитирует 24 вида гельминтов, из которых 4 относятся к классу Trematoda, 8 видов – классу Cestoda, 11 видов – классу Nematoda и 1 вид – к классу Acanthocephales [178].

M.N. Solaiman Al-Sabia, et al. (2013) провели исследование фекалий собранных в период с октября 2009 года по март 2012 г. в Дании у 99 енотовидных собак и 384 местных рыжих лисиц. Используемый метод седиментации и подсчета показал, что енотовидные собаки и лисы содержали соответственно 9 и 13 различных видов гельминтов, из которых несколько известны как зоонозные. Значительно больше видов нематод и цестод было обнаружено у лис, а у енотов выявлено больше трематод. Паразиты, передаваемые грызунами, были более распространены у лис, в то время как паразиты, передаваемые амфибиями – енотовидных собак. Одна лиса была заражена *Echinococcus multilocularis* (0,3%). *Trichinella spp.* были обнаружены у енотовидных собак и лис. Трематода *Brachylaima tokudai* была впервые обнаружена в Дании у пяти из 384 лисиц (1,3%). Распространенность *Pygidiopsis summary* (3,0% и 3,4%) и *Cryptocotyle spp.* (15,2% и 15,4%) были сопоставимы у енотовидных собак и лис, соответственно. Четыре вида гельминтов были более распространены у лис, чем у енотовидных собак:

*Toxocara canis* (60,9% и 13,1%); *Uncinaria stenocephala* (84,1% и 48,5%); *Mesocestoides spp.* (42,7% и 23,2%); и *Taenia spp.* (30,7% и 2,0%) соответственно. Три вида гельминтов чаще регистрировались у енотовидных собак, чем у лис: *Dipylidium caninum* (5,1% и 0,3%), *Mesorchis denticulatus* (38,4% и 4,2%), и *Alaria alata* (69,7% и 34,4%), соответственно. Вид *T. canis* был более распространен у лис, а *A. alata* - у енотовидных собак [365].

Дорошева А.М. (2010) проводила свои исследования по изучению паразитофауны пушных зверей в Московской области. Так, при обследовании 489 песцов, 35 лисиц, 6 гибридов песцов и лисиц, 200 норок и 10 хорьков, принадлежащих разным звероводческим хозяйствам у 147 обследованных песцов, была обнаружена *T. leonina* (ЭИ, 30,06%). У остальных зараженных животных болезнь протекала в виде микстинвазии: *C. vulpina* и *C. canivelocis* – 34 животных (6,95%) и смешанной инвазии (*T. leonina* + *C. vulpina*) – 12 животных (2,45%). Общая ЭИ у обследованных песцов из нескольких зверохозяйств составила 39,46% [63].

Бабин Н.А. (2002) выяснил, что: «паразитофауна пушных зверей в хозяйствах Ямало-Ненецкого автономного округа представлена 11 видами гельминтов, из них 4 вида нематод (*T. canis*, *T. leonina*, *U. stenocephala*, *Trichinella spiralis*), 4 вида цестод (*Diphyllobothrium latum*, *D. caninum*, *E. granuliosus*, *Taenia hydatigena*), 3 вида трематод (*Opisthorchis felineus*, *Metorchis bilis*, *A. alata*), а также 1 вид членистоногих (*Otodectes cynotis*). В популяции голубых песцов и серебристо-черных лисиц зарегистрированы в наибольшем количестве виды *T. canis* (ЭИ 30,8% и 19,4 экз.), затем *T. leonina* (26,2% и 14,4 экз.) и по ниспадающей – *U. stenocephala* (19,1% и 16,1 экз.), *T. hydatigena* (7,6% и 5,6 экз.), *D. latum* (6,1% и 4,3 экз.), *M. bilis* (3,2% и 7,4 экз.) и *E. granuliosus* (0,9% и 3,5 экз.). Реже у зверей встречаются *D. caninum* (ЭИ 0,3% и индекс обилия ИО 3,8 экз.), *O. felineus* (0,21% и 1,7 экз.), *A. alata* (0,023% и 1,9 экз.) и в единичных случаях - *T. spiralis* (ЭИ 0,008%) и ИО 5,2 экз.). Высока зараженность зверей *O. cynotis* (ЭИ 27,3%)» [12].

Написанова Л.А. (2016) проводила копроовоскопические и серологические исследования в зверохозяйствах Кировской области у песцов, норок, серебристо-черных и рыжих лисиц. У 95,5% животных были обнаружены яйца токсокар [147].

По данным Kapel С.М., Hancen Р. (1996), которые изучали паразитофауну в 8 различных биоклиматических районах Гренландии, при обследовании 254 диких песца (*Alopex lagopus*) установили, что распространенность инвазии гельминтами в разных районах различна: *T. leonina* (39-68%), *Strongyloides stercoralis* (0-14%), *Mesocestoides lineatus* (0-58%), *D. dendriticum* (0-15%), *Taenia ovis krabbei* (0-70%), *Cryptocotyle sp.* (0-3%), *Plagiorchis elegans* (0-6%) и *Polymorphus sp.* (0-3%). Кроме того, вид *Taenia sp.*, который, по-видимому, отличается от *T. ovis krabbei*, имел ЭИ 24%, но только на восточном побережье Гренландии. Таким образом, разнообразие видов гельминтов у песцов, выловленных в северных районах Гренландии, ниже, чем в южных районах; только виды нематод с прямым жизненным циклом были представлены одинаково во всех частях страны. Разнообразие окружающей фауны и, следовательно, продуктов питания, доступных для песцов, по-видимому, определяет спектр видов гельминтов [311].

Skírnisson K., Eydal M. et al. (1993) при обследовании 50 песцов (*Alopex lagopus*) в Исландии установили, что 44 из 50 животных были заражены 15 видами кишечных паразитов, включая простейших: *Eimeria sp.* или *Isospora sp.* (4%); трематод: *C. lingua* (24%), *P. elegans* (4%), *Brachylaemus sp.* (12%), *Tristriata sp.* (10%) и *Spelotrema sp.* (8%); цестод: *Mesocestoides canislagopodis* (72%), *Schistocephalus solidus* (2%) и *D. dendriticum* (4%); нематоды: *T. leonina* (50%), *T. canis* (2%), *U. stenocephala* (4%) и яйца легочного червя *Capillaria aerophila* (6%); и акантоцефал: *Polymorphus meyeri* (8%) и *Corynosoma hadweni* (2%). Из 15 видов кишечных паразитов у песцов, только четыре вида ранее были отмечены в Исландии, а одиннадцать видов – были зарегистрированы впервые [362].

Есаулова Н.В. (2001) проводила исследование гельминтофауны диких и домашних плотоядных в условиях Центральной зоны Нечерноземья. Она была представлена 4 видами: *T. leonina*, *A. alata*, *Tominx aerophilus*, *T. spiralis* [74].

«По данным Власенко Ю.И. (2007) видовой состав гельминтов плотоядных животных Краснодарского края представлен 16 видами гельминтов: 2 видами трематод – *A. alata*, *Echinochasmus perfoliatus*; 4 видами цестод – *D. caninum*, *T. pisiformis*, *E. granulatus*, *M. lineatus*; 10 видами нематод – *T. canis*, *T. mystax*, *T. leonina*, *U. stenocephala*, *A. caninum*, *T. spiralis*, *T. vulpis*, *C. putorii*, *D. repens*, *D. immitis*» [36, 215].

Luty T. (2001) изучал распространение токсокароза в Познаньском регионе у диких и домашних плотоядных. У 15 из 92 обследованных им лисиц были обнаружены *T. canis*. Токсокароз чаще регистрировался у взрослых лис (14%), чем у взрослых собак (3%). В отличие от кошек, самки собак и лис были менее инвазированы, чем самцы. В данном исследовании автор предполагает, что кошки могут представлять собой недооцененный риск передачи *Toxocara spp.* для человека и прогрессирующая синантропизация рыжих лисиц может также увеличить источники загрязнения окружающей среды яйцами токсокары [330].

Паразитофауна диких пушных зверей отличается от таковой у животных клеточного содержания. Это утверждает T. Meijer et al. (2010), проводившие исследования на популяции фенноскандийского песца (*Vulpes lagopus*). Количество этих диких зверьков находится под угрозой из-за хозяйственной деятельности человека и конкуренции в естественном ареале их обитания с более крупной красной лисой (*Vulpes vulpes*). Материал отбирался непосредственно в логовах животных. В результате удалось выявить яйца, личинки и ооцисты в общей сложности 14 различных эндопаразитов. По их данным такие виды, как *Balantidium sp.*, *Sarcocystis sp.* и *Trichuris sp.* были впервые описаны у диких арктических лис [324].

Saeed I. et al. (2006) проводили эпизоотологическое исследование у 1040 рыжих лисиц, обитающих в различных местах Дании в течение 1997-2002 гг. При вскрытии лисиц были выявлены 21 вид гельминтов, включая девять видов нематод: *C. plica* (распространенность 80,5%), *C. aerophila* (74,1%), *C. vulpis* (17,4%), *Angiostrongylus vasorum* (48,6% из Северной Зеландии (эндемичный район), *T. canis* (59,4%), *T. leonina* (0,6%), *U. stenocephala* (68,6%), *A. caninum* (0,6%) и *Trichuris vulpis* (0,5%); семь цестод: *Mesocestoides sp.* (35,6%), ряд видов тениид (*T. pisiformis*, *T. hydatigena*, *T. taeniaeformis*, *T. crassiceps*, *E. multilocularis* (0,3%) и неопознанные виды *Taenia sp.*) (22,8%); четыре вида трематод: *A. alata* (15,4%), *C. lingua* (23,8%), *Pseudamphystomum truncatum* (3,6% из Северной Зеландии) и *Echinochasmus perfoliatus* (2,4% из Северной Зеландии); один вид акантоцефал: *Polymorphus sp.* (1,2%). Значительная разница в распространенности была обнаружена для *T. canis* и *A. vasorum* в зависимости от пола хозяина, а для *T. canis*, *U. stenocephala*, *Mesocestoides sp.*, *Taenia spp.*, *A. alata*, *A. vasorum* и *Capillaria spp.* – в зависимости от возраста (взрослые, молодые или щенки). Распространенность и средняя ИИ паразитических червей для каждого вида значительно варьировались в зависимости от ареала, сезона и года. Агрегированное распределение было обнаружено для нескольких видов гельминтов. Два вида *E. multilocularis* и *E. perfoliatus* впервые были описаны в Дании [357].

Rajković-Janje R. et al. (2002) в течение 1999 года изучали распространенность эндопаразитов у 85 лисиц в Загребе. В ходе исследований было идентифицировано 6 видов нематод, 2 вида цестод и 2 вида трематод. Наибольший процент лисиц был инвазирован нематодами, наименьший – трематодами (*T. canis*, *C. vulpis*, *U. stenocephala* и *Taenia sp.*, *C. aerophila*, *C. plica*, *A. vasorum* и *Mesocestoides sp.*). Встречаемость *U. stenocephala* варьировалась с сезонными колебаниями с пиком инвазии в конце года, что указывает на важную роль климатических характеристик в распространенности и интенсивности эндопаразитной инвазии у лисиц,

которые являются потенциальным резервуаром, как для диких и домашних животных, так и для человека [353].

Распространенность *Sarcocystis sp.* была изучена у лисиц в северной Хорватии (г. Вараждин) в 2004 году. В ходе экспериментов были обследованы 50 кишечников (29 самцов и 21 самок) от лисиц в возрасте от 1 до 5 лет, погибших во время кампании по борьбе с бешенством. Саркоцисты были выявлены в 62% обследованных образцов кишечника, не зависящей от половой принадлежности. Тем не менее, частота встречаемости инвазии значительно различалась между животными в возрасте от одного (47%), двух (71%) и 3-5 лет (71%) [354].

### 1.3 Распространения арахноэнтомозов у пушных зверей

Арахноэнтомозы имеют широкое распространение, т.к. паразитические членистоногие живут на всех материках, имеют широкий ареал и проникают вслед за человеком во всё новые места обитания. Членистоногие поражают практически все культурные растения, домашних и промысловых животных [197].

Эктопаразитозы животных широко распространены в различных природно-климатических зонах России и других стран (И.Г. Галузо, 1950; А. Бердыев, 1981); А.А. Водянов, 1986; Ф.И. Василевич, 1986; Э.Б. Кербабаяев, 1998; R.S. Mueller, 2007 и др.) [86].

По данным Кербабаяева Э.Б. (1998) «в мире всего зарегистрировано свыше 25 тыс. видов клещей, а в странах СНГ и Прибалтики около 12 тыс. Наибольшее ветеринарное значение имеют представители семейств Psoroptidae, Canestrini (1892); Sarcoptidae, Murray (1877); Demodicidae, Nicolet (1855); Psorergatidae, Dubinin (1954) и Ixodidae, Murray (1877)» [87, 145].

Исследования многих ученых (Акбаев М.Ш. и др., 2000; Давлетшин А.Н., 2000; Берестов В.А., 2002; Сафиуллин Р.Т., 2006; Слугин В.С., 2004; Сафиуллин Р.Т., Мусатов М.А., 2009 и др.) доказывают, что в последние годы актуальными для звероводства являются такие болезни, как отодектоз и саркоптоз [86].

Это подтверждают исследования Пипченко Е.В., Никонова А.А. (2017), которые установили, что: «отодектоз среди животных на территории Российской Федерации имеет широкое распространение и занимает 25-30% от всех случаев заболевания плотоядных животных» [52]. В частности, инвазия имеет широкое распространение среди клеточных пушных зверей и домашних животных. ЭИ в отдельных хозяйствах составляет 20-54%, у домашних животных – 36,7%. Болезнь носит сезонный характер, пик инвазии наступает в мае – 44,9% и ноябре – 45,15%. Заражение возможно с месячного возраста [190, 335].

Результаты исследований Мусатова М.А., Сафиуллина Р.Т., проведенных в звероводческих хозяйствах Центрального федерального округа РФ показали, что пораженность отодектозом среди взрослого поголовья составила 58,2-78,0% у песцов и 48,9-75,1% у лисиц при низкой, средней и высокой степенях ИИ. Среди исследованного молодняка песцов зараженных ушной чесоткой было 68,3-86,5%, лисята были заражены на 69,7-85,0%. У лисиц наблюдали осложненную форму отодектоза в 2,5-4,0% случаев [145, 185].

«Саркоптоз зарегистрирован во многих звероводческих хозяйствах у песцов и лисиц, а также у собак охотничьих и служебных пород (Бобашинский А.И., 1944; Палимпсестов М.А., 1956; Герасимов Ю. А., 1970; Соколов А.В., 1994; Шустрова М.В., 1996; Schmidt H.W., 1941; Kober U., 1988). Так, по данным Шустровой М.В. (1996) саркоптоз в значительной степени распространен среди лисиц (51,7%) и собак (41,3%)» [61, 221].

Источниками инвазии саркоптозом, для домашних животных по данным Чирковой А.Ф. (1957), чаще всего являются дикие волки и лисы, а заражение регистрируется с месячного возраста [72, 132, 183, 221].

«О широком распространении саркоптоидозов плотоядных животных в хозяйствах Крыма, Украины, Молдавии, Ставропольского края. Московской области, Эстонии, Латвии, Дальнего Востока», сообщают следующие авторы [73, 78, 146, 175]. Случаи энзоотии саркоптозом лисиц, песцов, собак регистрировали также и в Швеции, Германии, Польше, Чехословакии, Финляндии, Норвегии на протяжении ряда лет [61, 72].

Wandler A., Kappeler A., Capt S. (1985) сообщают, что в Швейцарии саркоптоз лисиц отмечен во всех ландшафтах [382].

В звероводческих хозяйствах Крайнего Севера отодектоз имеет значительное распространение, степень зараженности взрослых голубых песцов (*Lepus lagopus*) составляет 22-46%, молодняка 56-63%. Эпизоотический процесс протекает круглогодично. Максимальный подъем



инвазии отмечается в ноябре 52%, минимальная заболеваемость – в феврале 29%. Болезнь в основном протекает хронически [132].

«Мир паразитов животных, а также методы борьбы с ними постоянно меняются, многие болезни имеют зоонозный потенциал. Несмотря на значительные достижения, проблема лечения и профилактики паразитарных болезней домашних собак и кошек на сегодняшний день остается актуальной. Арахноэнтомозы у сторожевых собак регистрируются во всех хозяйствах зарубежных стран и Республики Беларусь, поражая до 45% плотоядных. Клещи и кровососущие насекомые, инокулируя биологически активные вещества и выделяя продукты жизнедеятельности при укусах, вызывают зуд, раздражение, воспалительную аллергическую реакцию, токсикоз у животных. Травмируя и нарушая целостность кожного покрова, они открывают ворота для инфекции. Кроме того, клещи и насекомые являются переносчиками ряда опасных инфекций и инвазий (риккетсиозы, боррелиоз, бабезиоз, эрлихиоз, дирофиляриоз и др.)» [40].

Герасимчик В.А., Еремеев Е.С. (2018) периодически регистрировали в зверохозяйствах на территории Республики Беларусь в собакопитомниках эктопаразитарные болезни, вызываемые чесоточными клещами (*O. cynotis*) и насекомыми (*Stenocephalides spp.*) [40]. По данным Герасимчик В.А., Еремеев Е.С. (2018) и др. авторов: «важное значение в распространении эктопаразитозов играют служебные и сторожевые собаки, охраняющие различные объекты, а также безнадзорные кошки, обитающие на территории зверохозяйств и промышленных объектов» [52, 103, 127, 145, 190, 335].

#### **1.4 Патогенез и симптоматика инвазионных болезней пушных зверей**

Комплекс патогенетических факторов, вызываемых паразитами, влияющих на организм пушных зверей зависит от многих факторов: вида паразита (экто- или эндопаразит), численности, вирулентности, места обитания, биологии, физиологического состояния хозяина и условий кормления и содержания животного.

Многие авторы указывают, что наиболее разрушительное влияние на организм оказывают эндогенные стадии паразитов. Так, у больных эймеридами животных ежедневно гибнет более 500 млн. эпителиальных клеток кишечника [144, 157, 189, 212-214, 232, 339].

Гельминты, как и простейшие, при высокой ИИ способны нанести ощутимый ущерб организму животных или привести к гибели. При сильной степени инвазии они способны закупорить просвет кишечника и даже привести к разрыву стенок, что в последствие приводит к перитониту. Помимо этого, гельминты с рвотой способны проникать в трахею, носовую полость и пищевод, вызывая асфиксию. Таким образом, они представляют смертельную опасность для животных [37, 81, 82].

Простейшие и гельминты травмируют и разрушают кишечные клетки. Так, например, в начале патологического процесса эймерииды разрушают эпителиальные клетки кишечника, в которых они размножаются путем мерогонии (бесполого размножения), а затем гаметогонии (полового размножения). Затем этот процесс распространяется на близлежащие ткани и кровеносные сосуды, вызывая отек, воспаление и кровоизлияние. Нарушается защитная функция стенки кишечника, что позволяет микрофлоре проникать вглубь тканей и обостряет течение болезни. Животные погибают не от самих простейших, а от обширных некрозов слизистой оболочки кишечника, т.к. отторгнутые клетки, кровь, все это является благоприятной средой для развития вторичной микрофлоры; от нарушения всасываемости

питательных веществ, от нарушения вызванных их деятельностью и нарушением целостности кишечной стенки.

Помимо перечисленных факторов возникает нарушение моторики желудочно-кишечного тракта, отмечается диарея, интоксикация и дегидратация всего организма животного [37].

Ряд исследователей, как у нас в стране, так и за рубежом придерживаются мнения, что важную роль в патогенезе протозоозов у пушных зверей играет интоксикация, вследствие всасывания продуктов распада клеток кишечника и жизнедеятельности, как самих паразитов, так и патогенной микрофлоры [138, 157 и др.].

Гельминты помимо механического воздействия на кишечник, также выделяют токсины и продукты собственного обмена, которые всасываются через поврежденную слизистую, приводят к интоксикации организма и ухудшению состояния животного [10, 24, 26, 30, 54, 57, 124, 137, 270, 356, 360, 364, 366].

Особенно инвазионные болезни опасны для молодняка пушных зверей, по литературным данным, именно в возрасте от 18 дней до 2,5-3 мес., у животных наблюдается максимальный отход, гибель же взрослых животных от данных болезней встречается крайне редко [7, 38, 63, 76, 114].

Тем ни менее, переболевшие животные приобретают иммунитет, который не защищает животных от заболевания другим видом паразита и сохраняется лишь при хороших условиях содержания животных [51, 56, 217].

Эктопаразиты, наравне с простейшими и гельминтами, оказывают патологическое влияние на организм больных животных.

Проведенные рядом ученых исследования показали, что у пушных зверей, интенсивно инвазированных эктопаразитами, в частности, больных саркоптозом, отодектозом и др., «отмечается прогрессирующее воспаление кожи, вызванное жизнедеятельностью клещей, которое, в свою очередь, вызывает истончение эпидермиса и исчезновение рогового слоя с

последующей деформацией сосочкового слоя дермы» [61]. По данным Доронина М.В. (2003) «помимо этого, происходит разрушение волосяного фолликула, что приводит к разрушению самого корня волоса и его гибели. Образуются алопеции на коже больных животных. В результате воспаления возникает глубокая эрозия кожи и отек соединительной ткани. Кожа полностью теряет способность выполнять свои функции, что в конечном итоге может служить причиной гибели животного» [61].

Важно отметить, что в патогенезе при отодектозе, по сравнению с зудневой чесоткой, вызванной саркоптозом, «наблюдается выпадение двух стадий воспаления – пустулезной и везикулярной. Это связано с тем, что ушные клещи – накожные паразиты, а зудневые – внутрикожные. Пустулы вскрываются и гнойный экссудат выливается наружу, что загрязняет шерстный покров животного. Затем на месте пустул появляются ярко-красные эрозии, дно которых представлено обнаженными, гиперемизированными, отечными сосочками. Из них продолжает просачиваться экссудат соломенного-желтого цвета иногда с примесью крови, вследствие чего гиперемизированная припухшая кожа в зоне эрозий оказывается постоянно мокнущей. Процесс, таким образом, переходит в стадию мокнущей экземы, которая в последствие переходит в корочковую стадию. Такие участки при зудневой чесотке сильно шелушатся» [14].

Садчиков С.Ю. (2001) отмечает, что в основе патогенеза изученных им саркоптоидозов, лежат морфофункциональные изменения кожи, соединительной ткани, печени и почек, приводящие в конечном итоге, к более серьезным нарушениям биохимического гомеостаза [183].

Потёмкин В.И. (1956) указывает, что: «у больных отодектозом собак, происходит снижение внимательности, слуха и послушания. Больные собаки и кошки страдают от сильного зуда и воспаления кожи, усиливающегося после внедрения в поражённые клещами участки кожи секундарной микрофлоры. Запущенные случаи отодектоза животных приводит к тому, что

воспалительный процесс переходит на ткани среднего и внутреннего уха и головного мозга» [128, 175].

По мнению целого ряда авторов, Мусатов М.А. (2003), Еремина Т.С. (2003), Доронин М.В., (2003) отодектозная инвазия оказывает отрицательное влияние на продуктивность пушных зверей. «Так, среднесуточные приросты зараженных песцов по отношению к здоровым меньше на 6,1-7,2 г, лисиц на 21,5 г. Также уменьшается стоимость шкурок, полученных от больных отодектозом песцов и лисиц, по отношению к свободным от инвазии животных. У самок, пораженных отодектозом, плодовитость ниже на 0,17-1,26 у песцов и 0,18-0,86 у лисиц, выход молодняка на момент регистрации ниже на 0,24-1,54 у песцов и 0,74 у лисиц» [61, 72, 145, и др.].

Что касается изучения клинических признаков эймериидозов у норок, песцов и серебристо-черных лисиц, имеются лишь скудные сведения в работе ряда авторов: Аниканова В.С., Аникеевой Л.В., Нукербаевой К.К., Герасимчик В.А. [4, 39, 151]. По их данным эти болезни протекают, как правило, хронически, и в основном характеризуются задержкой роста и развития молодняка, иногда диареей, а также снижением качества меха, получаемого от таких животных. Острое же течение эймериозной инвазии проявляется лишь у молодняка в возрасте 20-80 – дневного возраста. В первые дни оно характеризуется угнетенным состоянием, плохим аппетитом, расстройством функции желудочно-кишечного тракта и диареей с обилием слизи, и зловонным запахом.

Схожие клинические симптомы вызывают и гельминтозные болезни пушных зверей, такие, как токсокароз, токсаскариоз и другие. У животных отмечают угнетение, снижение или извращение аппетита, анемия видимых слизистых оболочек, взъерошенность шерсти, чередование диареи и запоров [37, 168, 172].

Цестодозы пушных зверей, в частности, дифилоботриоз, характеризуются появлением общей интоксикации, анемичностью слизистых

оболочек, «гиповитаминозами, нарушением пищеварительной функции, сенсбилизацией организма с последующим формированием аллергических реакций. При этом изменения со стороны иммунной системы организма являются наиболее значимыми, поскольку гельминты активно вмешиваются в ее функционирование» [6, 82, 223].

Однако большинство авторов склоняются к тому, что выраженность симптомов болезни, вызванных токсокарами, токсаскаридами, унцианриями, а также другими нематодозами и цестодозами зависит от ряда факторов: ИИ, возраста животных, состояния упитанности и др. [37, 76, 168, 255, 330, 358].

Взаимодействие в системе паразит-хозяин имеет сложную биологическую основу, в которой также важную роль играют микроорганизмы. Высокая ИИ паразитами, нарушение целостности слизистой оболочки приводит к воспалению кишечника, что способствует развитию условно патогенной микрофлоры (например, *E. coli* и *Bacteroides/Prevotella*). Все эти процессы сопровождаются изменениями состава микрофлоры кишечника, включая уменьшение разнообразия и переход от грамположительных к грамотрицательным бактериям [260, 262, 302].

Таким образом, имеющиеся литературные данные указывают на то, что инвазионные болезни пушных зверей вызывают различные изменения в органах и системах организма, а также способны приводить к гибели животных. В следствии этого изучением патогенеза и симптоматики инвазионных болезней у пушных зверей занималось достаточно много ученых. Однако, как правило, большинство работ было посвящено моноинвазиям, тогда как при микстинвазиях нематодозов, протозоозов и арахноэнтомозах исследования не проводились. Описывая симптомы, авторы не всегда указывают названия обнаруженных видов паразитов, отсутствует информация по патогенности возбудителей болезней, что указывает на необходимость уточнения данных вопросов.

## 1.5 Изучение иммунитета при кишечных паразитозах пушных зверей

Несмотря на достаточно широкое освещение в литературе вопросов терапии и профилактики болезней пушных зверей, вопрос роли иммунитета изучен недостаточно [25, 30, 103, 245].

Основоположниками изучения иммунитета при паразитарных болезнях являются такие ученые, как Шульц Р.С., Даугалива Э.Х., Филиппов В.В., Шихобалова Н.П. «Характер течения иммунологического процесса при гельминтозах во многом определяется вирулентностью возбудителей – индивидуальной (приобретенной в процессе предшествующего онтогонистического развития), штаммовой или расовой степенью патогенности возбудителя, проявляющихся на данном хозяине в определенных конкретных условиях» [55, 217, 220].

«Иммунные реакции, направленные против паразитических организмов, представляют собой сложную последовательность защитных реакций и могут проявляться в подавлении или замедлении развития гельминтов, сокращении длительности их жизни» [217, 343].

«Интенсивность иммунного ответа зависит от числа гельминтов, поступающих в организм» [55, 91, 126, 343].

«Наиболее современное представление об иммунитете сформулировали Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г., Хаитов Р.М., (2000). Иммунитет – это особое биологическое свойство многоклеточных организмов, в норме предназначенное для защиты от инфекций и иных внешних патогенов, способных при попадании во внешнюю среду вступать в прочные связи с клетками и/или межклеточным веществом» [210, 217].

**Механизм противопаразитарного иммунитета.** «Иммунный ответ при паразитозах, так же, как и при бактериальных и вирусных инфекциях, представляет собой цепь дифференцировок иммунокомпетентных клеток организма хозяина под влиянием антигенов, выделяемых паразитом. Одна популяция клеток – В-лимфоциты, формирующаяся под влиянием костного

мозга, трансформируется в плазматические клетки, продуцирующие антитела (гуморальный иммунитет), а другая – Т-лимфоциты – (тимусзависимая) формирующаяся под контролем тимуса, трансформируется в малые лимфоциты, участвующие в реакциях клеточного иммунитета. Иммунные малые лимфоциты выделяют в кровь множество медиаторов, представляющих собой гуморальные факторы клеточного иммунитета. В процессе иммунного ответа В-лимфоциты активируются и превращаются в плазматические клетки, после чего начинается выработка антител» [82], которые связываются с антигенами чужеродного происхождения, обуславливающих различные реакции, приводящие к разрушению агента.

Связывание антигена с Т-клетками приводит к развитию клеточного иммунного ответа [32, 217].

При паразитозах, в частности, гельминтозах вырабатываются антитела, относящиеся к четырем классам иммуноглобулинов – IgG, IgM, IgE, IgA [56, 90, 224]. Наличие того или иного иммуноглобулина, а также его количество зависит от вида и стадии развития паразита. «В ранний период заболевания в сыворотке крови обычно преобладают IgM, которые постепенно вытесняются IgG [57]. Очень мало пока известно о противопаразитарных антителах класса IgA. При наличии паразитов в организме животных отмечается резкий подъем концентрации IgE [57, 90, 224]. IgG и IgM обладают протективным действием, они способны повреждать гельминтов; формировать преципитаты вокруг их выводных отверстий; нарушать нормальное течение физиологических процессов паразита; связывать выделяемые ими ферменты» [57, 131, 217, 224].

Макрофаги также участвуют в цепи событий называемым иммунным ответом. В своей работе Шемякова С.А., Акбаев М.Ш., Есаулова Н.В. (2005) указывают, что: «эти клетки мононуклиарной фагоцитарной системы обнаруживаются в крови, соединительной ткани, красном костном мозге, печени, легких, нервной системе, в брюшной, плевральной и суставных полостях [217]. Ряд ученых Денев И., Бьерданов И. (1974), отмечали участие



макрофагов в перестройке всей иммунной системы при экспериментальном заражении морских свинок личинками диктиокаулюсов. Их зарубежные коллеги Yoan K., Lymnery et al. (1986) выявили с помощью моноклональных антител возрастание активности макрофагов при аскариозе свиней» [217].

Важную роль в иммунитете играют нейтрофилы, основной функцией которых является – фагоцитоз, в процессе которого важное место отводится эозинофилам и цитокинам [58, 101, 149, 150, 210]. Они принимают активное участие в реализации, как клеточного, так и гуморального иммунного процесса, имея рецепторы к иммуноглобулинам различных классов и компонентам комплемента. В ответ на попадание в организм паразитов из красного костного мозга, в кровяное русло попадает большое количество эозинофилов, они циркулируют в крови 3-8 часов, после чего фиксируются в тканях, где начинают выделять ферменты, обладающие протеолитической активностью в отношении не только паразитов, но и нормальных тканей.

Базофилы же имеют рецепторы к иммуноглобулинам IgG и IgE, они участвуют в межклеточных взаимодействиях. Но основная функция этих форменных элементов – участие в развитии противопаразитарного иммунитета [55].

«В иммунном статусе организма важную роль играет естественная резистентность (ЕР). Следует подчеркнуть, что в реакциях ЕР принимают участие активированные макрофаги, естественные киллеры, естественные антитела и ряд гуморальных факторов (лизозим, пропердин, лактоферрин)» [29, 148, 210].

Естественную резистентность млекопитающих к патогенным микроорганизмам и чужеродным агентам определяют неспецифические клеточные и гуморальные факторы. К таким факторам относят защитные свойства кожи и слизистых оболочек, бактерицидную активность сыворотки крови, слезную жидкость, слюну, молоко и другие жидкости организма, которые обеспечивают наличие в них неспецифических гуморальных

факторов – лизоцим, комплемент, пропердин, интерферон, бета-лизин, естественные антитела и др. [66, 101, 210].

Особенности иммунитета при гельминтозах характеризуются многообразием и многофазностью проявлений, слабой напряженностью и низкой специфичностью [10].

В своей работе Никонова Э.Б. (2008), указывает на то, что гельминты вызывают глубокие иммунодефициты, о чем свидетельствуют нарушения параметров естественной резистентности организма, содержания Т-Е-РОК-лимфоцитов [150]. Эти иммунные патологии осложняются активизацией супрессорных реакций в организме [109].

Паразиты со своей стороны выделяют антигены. Антигенными свойствами обладают ткани тела гельминтов и их секреты. Гельминтозные антигены неоднородны по своей структуре и состоят из множества компонентов. Установлено, что видоспецифическими свойствами обладает меньшая часть антигенов гельминтов, большинство же антигенов идентично другим видам гельминтов, простейшим и бактериям (так называемые перекрестно реагирующие антигены). Показано, что антигены, приготовленные из аскарид, по своим биологическим эффектам сходны с антигенами бактериальной природы [223]. Многие гельминты вырабатывают антигены, общие с хозяином [217]. Таким образом, паразиты маскируются в организме животного. Это обстоятельство может повышать патогенность паразитов, поскольку хозяин в этом случае не распознает их как "не свое" и не отвечает на них выработкой иммунитета и другими защитными реакциями. Общие антигены являются также причиной развития при определенных условиях аутоиммунных процессов при гельминтозах [225].

Важным моментом в процессе взаимодействия организма хозяина с паразитом является его сенсibiliзирующее воздействие, обусловленное продуктами метаболизма и распада.

«У пушных зверей, в частности у норок, за последние годы участились случаи возникновения и развития вторичных иммунодефицитов, снижения их иммунологической реактивности, на фоне которых резко снижаются товарные свойства шкурок норок» [150].

Даугалиева Э.Х. (1994) на различных экспериментальных моделях доказала, что «иммунный ответ при гельминтозах представляет собой каскад молекулярных и клеточных событий, начинающийся в организме с накопления иммунных эффекторных и регуляторных клеток» [55, 217].

В работе Никоновой Э.Б., Максимова В.И. указывается, что: «функциональная целостность иммунной системы зависит от существования тонких регуляторных механизмов, включающих контроль над интенсивностью иммунного ответа, обеспечение необходимого типа иммунного ответа, защиту организма от нежелательных последствий иммунной реакции» [149]. По мнению этих авторов, их результаты согласуются с работами и других исследователей: (Бернет Ф.М., 1981; Лозовой В.П., 1981; Петров Р.В., 1982; Павлович С.П., 1998; Галактионов В.Г., 1998; Федоров Ю.Н., Верховский О.А., 1998, 2000; Stites D.p. et. al., 1994; Benjamini E. et.al., 1996; Day M., 1998 и др.) [149].

«Иммунные механизмы не всегда работают во благо: в ряде случаев они могут оказывать иммуноагрессивное действие в собственном организме, вызывая тяжелую патологию: аллергические, аутоиммунные, иммунокомплексные и иммуннозависимые болезни» [90].

По данным Ершова В.С. и Наумычевой Н.И. (1966), аллергические реакции выделены в сенсibilизированном организме при гельминтозах как один из механизмов иммунитета. Гельминтозы относят к болезням с обязательным аллергическим компонентом [91].

Белковые субстанции, вырабатываемые паразитами и «вызывают ответные иммунные и аллергические реакции. Антигены гельминтов делят на экзогенные и эндогенные. Экзогенные антигены выделяются паразитом в

процессе жизнедеятельности половозрелых и личиночных стадий и поступают в организм хозяина, постоянно сенсибилизируя его и вызывая аллергические реакции. Эндогенные антигены образуются и действуют на организм хозяина после гибели и распада паразита» [81].

Даугалиева Э.Х. (1978, 1981) и другие исследователи показали, что у животных, зараженных в возрасте, когда иммунологическая система слабо развита или после введения антилимфоцитарной сыворотки, когда подавляется иммунная система к гельминтам, повышается ИИ, задерживается удаление гельминтов из органов, они начинают выбрасывать продукты жизнедеятельности в неинвазированные ткани и провоцируют появление аллергических реакций [57, 58].

Особенностью иммунного ответа при гельминтозно-протозойных инвазиях является его слабая специфичность, обусловленная различной природой паразитарных антигенов. Гельминты и простейшие способны активно вмешиваться в работу иммунной системы хозяина, нарушая функционирование различных её компонентов [32, 90, 223].

«Сложность аллергических процессов зависит от локализации паразита, контакта с тканями хозяина и от количества поступающих антигенов. При кишечных гельминтозах яркие аллергические симптомы характерны для миграционной стадии паразитов. Так, при гименолепидозе аллергических явлений практически не наблюдается, так как выделяемые паразитами антигены, попадая в просвет кишечника, большей частью выводятся из организма естественным путем, и только изредка приводят к аллергическим симптомам. В миграционной же стадии (например, аскариоза и токсокароза), когда личинки находятся в кровяном русле и в тканях, наблюдается значительное увеличение эозинофилов в крови. В случае наиболее тесного контакта паразита и хозяина (например, трихоцефалез) паразит также находится в просвете кишечника, но его стилет внедряется в слизистую оболочку, общих аллергических явлений не наблюдается, но иногда

образуются инфильтраты, состоящие из эозинофилов и плазматических клеток, а также – опухолевидные гранулематозные разрастания. Еще более тесный контакт с тканями хозяина наблюдается при описторхозе, когда паразиты располагаются в протоках печени и поджелудочной железы. Кошачья двуустка присасывается к стенкам протоков, при этом создаются наиболее благоприятные условия для проникновения антигенов в кровоток. Для острой фазы описторхоза характерны ярко выраженные аллергические симптомы. Эозинофилия сочетается с разнообразными аллергическими симптомами: крапивницей, отеками, лихорадкой, артралгиями, миалгиями, эозинофильными инфильтратами в легких» [32, 90, 223].

Таким образом, в ответ на внедрение паразита, у хозяев с аллергической реактивностью организма изменяется сила иммунологических реакций, то есть подавляется иммунный ответ организма хозяина, создаются условия для дальнейшего развития аллергических процессов.

В ряде исследований много усилий посвящено изучению иммунодефицитов, возникающих у животных в различные периоды жизни, в связи с чем ученые много внимания уделяют иммуностимулирующей терапии и иммунопрофилактике [8, 91, 272, и др.].

«На важность изучения иммуностимуляции при гельминтозах и протозоозах на фоне иммунодефицитов» указывают в своих исследованиях ряд авторов [109, 148, 210, 223, 225].

Бочкарев В.Н. (1997) и др. авторы отмечают, что на фоне паразитозов у молодых животных развиваются иммунодефициты и указывают на необходимость дегельминтизации и поиска иммуномодулирующих препаратов [30, 84, 109].

По мнению ряда авторов, Moretta L., et al. 1975; Слипец И.В., 1990 и др., проблема стимуляции иммунитета у животных является принципиально важной задачей, так как формирование иммунитета у животных в более

поздние сроки приводит к низкой устойчивости к различным инфекционным и инвазионным болезням [193, 338 и др.].

Однако актуальными остаются проблемы изыскания средств и разработки методов коррекции иммунного ответа организма животных на внедрение возбудителей болезней вообще, и паразитов в частности [91].

Одним из средств коррекции иммунного ответа являются иммуностимуляторы, применение которых совместно с антигельминтиками значительно повышает эффективность противопаразитарных мероприятий [42, 55, 180, 204, 223].

Необходимо отметить, что: «применяемые для лечения животных антгельминтные препараты также могут вызвать иммунодепрессию» [55, 56, 109, 126, 148]. Поэтому знания современной иммунофармакологии помогают выбрать «препараты, обладающие иммуномодулирующим действием, которые способны восстанавливать утраченную или пониженную функцию иммунокомпетентных клеток. В связи с этим, по мнению Таировой А.Р., Кузнецовой А.И. (2002), возникает настоятельная потребность изыскания и применения препаратов, повышающих адаптационные возможности организма животных (антиоксидантов, гепатопротекторов, иммуномодуляторов)» [42].

Проблема регуляции иммунной реактивности имеет большое значение как в теоретическом, так и практическом аспектах. «Поиск новых иммуноактивных препаратов является одним из актуальных вопросов ветеринарной медицины. Важное место в регуляции иммунного ответа занимает стимуляция иммунитета» [355].

## 1.6 Изучение микробиоты пушных зверей и плотоядных, влияние на нее различных факторов

В своей работе Bahl Martin I. et al. (2017) указывает, что: «состав микробного сообщества кишечника плотоядных животных в целом отличается от состава всеядных и травоядных животных, где значительно преобладают виды, принадлежащие к типу Firmicutes, и сравнительно мало Bacteroidetes, о чем свидетельствует секвенирование генов 16S рРНК фекальных образцов, например, кошек и собак» [238].

«Культуральное исследование анаэробных и микроаэрофильных бактерий в образцах фекалий хорьков (*Mustela putorius furo*), проведенное Nizza et al. (2014), позволило выявить *Clostridium acetobutylicum* и *Helicobacter spp.* [295, 340]. Gugolek et al. (2013) изучая микробиоту норки (*Neovison vison*) с помощью культивирования, Williams, Elnif, & Buddington (1998) выяснили, что самая высокая бактериальная нагрузка обнаружена в толстой кишке, что примерно на 2-4 порядка ниже, чем у многих других млекопитающих [295, 287]. Это может быть связано с коротким кишечным трактом и быстрым временем транзита в кишечнике. Кишечный тракт норки только в четыре раза превышает длину тела, и время прохождения корма составляет 4-5 ч [300, 371]. В более позднем исследовании было зарегистрировано еще более короткое время транзита для норки клеточного содержания и различалось между самцами и самками [295]. Это особенно важно учитывать при изучении кишечных протозоозов и патентного периода выделения ооцист паразитов в окружающую среду» [238].

Активное изучение микробиоты кишечника норки началось с 2017 года. До этого исследования, которые проводились, были основаны на традиционных культуральных методиках [380, 381, 387]. Работы Kasiraj et al. (2016), Kohl et al. (2014), Sonoyama et al. (2009) доказали, что, «что голодание в течение определенного периода времени влияет на состав микробиоты у ряда филогенетически разнообразных видов, включая рыб, грызунов, собак и

норок» [238, 312, 316, 367]. Воздействие на микробиоту после лишения корма выражается в увеличении количества муцин-деградирующих бактерий *Akkermansia muciniphila* [367] и *Bacteroidetes* [312]. Кроме того, сообщалось о снижении концентрации короткоцепочечных жирных кислот (продуктов микробной ферментации) в слепой кишке во время голодания [367]. Было показано, что изменения, вызванные голоданием в составе микробиоты тощей кишки собак, уменьшаются после возвращения животных к нормальному кормлению [312]. Это указывает на общую устойчивость, аналогичную тому, что часто наблюдается после лечения антибиотиками [268].

Williams et al., (1998) установили, что: «из-за короткого кишечного тракта и быстрого времени транзита в кишечнике норки можно предположить, что микробное сообщество норки может просто отражать их питание. Было высказано предположение, что быстрое перемещение пищи по желудочно-кишечному тракту может не дать достаточно времени для бактериального метаболизма, чтобы обеспечить среду, подходящую для роста анаэробов» [Williams, C., 1998].

«Микробиом большинства животных содержит бактерии, принадлежащие к классу Firmicutes и Clostridia, что также наблюдается и у плотоядных животных [291, 295]. Интересно отметить, что в ассоциированной со слизистой оболочкой микробиоте некоторых животных значительно преобладали другие бактериальные группы, включая Fusobacteriaceae, Pasteurellaceae и Enterobacteriaceae. Виды внутри этих бактериальных семейств частично являются патогенными [307], хотя это и не оказывает негативного влияния на организм плотоядных. Поэтому, необходимы дальнейшие исследования для изучения связи между проблемами здоровья и микробиотой кишечника норок клеточного содержания» [238].

Vahl M.I. (2017) в своей работе указывает, что: «данные бактериального культивирования показывают сопоставимые уровни анаэробных и аэробных бактерий со средним уровнем приблизительно  $10^5$ - $10^6$  КОЕ/г, что может, в



частности, быть связано с трудностями культивирования многих клостридий, идентифицированных секвенированием» [238], и согласуется с предыдущим исследованием, перечисляющим культивируемые бактерии из слизистой оболочки тонкой кишки [238, 387]. Количество лактобацилл и бифидобактерий варьирует и может достигать уровня, сопоставимого с общим количеством анаэробных клеток у некоторых животных. Это согласуется с предыдущим исследованием, проведенным группой ученых Nizza et al., (2014) на хорьках, которое показало, что «эти два рода являются вторым и третьим наиболее часто выделяемыми анаэробными бактериями» [340], но кажется несовместимым с данными секвенирования гена 16S рРНК, которые указывают на низкое относительное обилие лактобацилл и отсутствие бифидобактерий. «Причины этого несоответствия могут быть объяснены более высокой чувствительностью секвенирования по сравнению с культивированием и невозможностью культивирования всех анаэробных бактерий из образцов с использованием данного метода» [238, 352].

Именно поэтому в последнее время для оценки таксономического и метаболического разнообразия микробных сообществ на экосистемном уровне широко используются метагеномные технологии секвенирования, основанные на полиморфизме длин терминальных рестрикционных фрагментов генов 16S рРНК, в том числе и для изучения кишечного микробиома.

Метагеномный анализ – это один из наиболее развивающихся методов лабораторной диагностики, позволяющий на современном уровне проводить изучение в совокупности генетического материала (метагенома) сообществ микроорганизмов [292].

По данным Курильщикова А.М. с соавт. (2012) важной особенностью метагеномных исследований можно считать отсутствие необходимости в изоляции и культивировании микроорганизмов, что является принципиальным моментом, поскольку не все из них возможно

культивировать на микробиологических средах. К тому же это позволяет включить в анализ присутствующие в популяции вирусы и бактериофаги, что, несомненно, расширяет представление о метагеноме. Золотым стандартом секвенирования до сих пор остается метод Сэнгера [125]. Из-за большого размера метагенома использование этого метода неоправданно с точки зрения временных и финансовых затрат. На сегодняшний день для исследований метагенома применяют более высокопроизводительное параллельное секвенирование (ВПС) на таких платформах, как SOLiD («Applied Biosystems»), 454 («Roche») и HiSeq («Illumina»). «Все три технологии ВПС основываются на нескольких этапах, а именно: получение библиотеки ДНК-фрагментов, ее амплификация и определение нуклеотидных последовательностей» [125].

В последнее десятилетие было проведено много исследований с использованием секвенирования гена 16S рРНК для характеристики состава микробиоты, однако этот анализ, в основном, определяет обилие и разнообразие бактерий в образце. Хотя существует вычислительный подход к прогнозированию функционального состава метагенома по последовательностям гена 16S рРНК [251, 321].

Метагеномный анализ также идентифицирует обилие и разнообразие микробного сообщества, но дополнительно может идентифицировать содержание генов и предполагаемый функциональный потенциал белков, кодируемых в геномах микробного сообщества. Метатранскриптомный анализ позволяет идентифицировать экспрессируемые транскрипты в микробиоме. Номера транскриптов могут также использоваться для сравнения профилей экспрессии генов между микробными сообществами. Кроме того, для сравнительного исследования метатранскриптомные данные должны быть сопряжены с метагеномными данными, чтобы проанализировать, отражает ли обилие транскриптов изменения в составе сообщества [264, 288].

По данным Foxman V. et al. (2008), «микробиом был концептуализирован как динамическое экологическое сообщество, состоящее из множества таксонов, каждый из которых потенциально взаимодействует друг с другом, хозяином и окружающей средой» [287]. Далее используется термин микробиом, чтобы обозначить микробные сообщества и вирусы в сочетании с окружающей средой, в которой они обитают, взаимодействуя как система.

Кишечный микробиом представляет собой коллективно взаимодействующие геномы и симбиотические микроорганизмы в желудочно-кишечном тракте [313].

В последние годы роль кишечной микробиоты в развитии болезней, была установлена у различных видов, включая людей, мышей, собак и свиней [233, 281, 373, 378].

На сегодняшний день большинство исследований было сосредоточено на травоядных и всеядных животных, и лишь немногие исследования были проведены на плотоядных животных. Кроме того, за исключением нескольких исследований на домашних кошках, предыдущие исследования, проведенные на плотоядных животных, были основаны на ограниченном количестве образцов (то есть десять или меньше).

Первое исследование, в котором применяется высокопроизводительное секвенирование 16S гена рРНК для характеристики желудочно-кишечной микробиоты норки осуществлено Martin I. Vahl et al. в 2017 году. «Это исследование включало только ограниченное число клинически здоровых норок, но методология представляет значительный интерес для получения новых представлений о патогенезе многих болезней в промышленном звероводстве, а также определения новых профилактических и терапевтических мероприятий» [238].

Норка (*Neovison vison*) – важная группа животных для животноводства, имеющая короткий и простой желудочно-кишечный тракт, что приводит к

относительно быстрому общему времени прохождения пищи [248, 361]. Это относится к количеству времени, за которое бактерии должны усваивать питательные вещества, так как более быстрое время транзита уменьшает бактериальную продукцию короткоцепочечных жирных кислот и ухудшает усвоение аминокислот.

В одном из исследований при небольшой выборке хорьков (которые являются наиболее близкородственными к норкам зверями) был выделен только один организм, относящийся к (phylum Firmicutes) – *Clostridium acetobutylicum*, который культивировался из >50% фекальных образцов, что свидетельствует о том, что у хорьков бактериальная микробиота гораздо беднее по сравнению с другими млекопитающими. Прочие идентифицированные виды включали других членов *Firmicutes*, а также членов *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, которые характерны для других плотоядных животных [340].

Используя бактериальную культуру, полученную из фекальных мазков выращенной в Дании норки, Vulfson L. (2003) с соавт. выделяли *Escherichia coli*, энтерококки и молочнокислые бактерии из 50%, 90% и 90% образцов, соответственно [380].

Однако культурально-зависимые методы, как правило, не способны обеспечить детальное или даже обязательно точное отражение сложной фекальной микробиоты. Это отражается в выявленном Bahl et al. (2017) несоответствии между организмами, идентифицированными из слизистой оболочки кишечника норки микробиологической культурой, и организмами, идентифицированными секвенированием гена 16S рРНК. В их исследовании, при определении классическим культуральным методом, клостридии не были обнаружены, однако при секвенировании следующего поколения, они составили большую долю последовательностей в исследуемых образцах [238]. Это свидетельствует о том, что многие виды бактерий, вероятно, ранее были

недостаточно представлены в культуральных исследованиях и, таким образом, их значение для желудочно-кишечной микробиоты не определено.

Неясно, является ли кишечная микробиота плотоядных столь же обширной, функциональной или влияющей на состояние питания и общую продуктивность хозяина, как и у не плотоядных.

Многочисленные данные указывают на то, что в кишечнике хищников обитает по некоторым оценкам несколько сотен видов бактерий, другие ученые, использующие устаревшие методы диагностики, говорят о том, что микрофлора кишечника плотоядных сравнительно бедна из-за бедного разнообразия корма, потребляемого плотоядными, и те, и другие указывают на то, что в их кишечнике есть бактерии, считающиеся облигатными патогенами, и при этом часто встречаются в норме у вполне здоровых животных, например, бактерии родов *Campilobacter*, *Salmonella* и *Clostridia*.

В одном из исследований было показано, что микробиота толстого кишечника кошки необходима для оптимального использования питательных веществ и зависит от диеты [241]. Однако это контрастирует с результатами гнотобиотических хорьков, которые имели минимальные морфологические или метаболические изменения с выбранной, а не обычной кишечной микробиотой [331]. Кроме того, у норок значительно меньше кишечных бактерий (на 2-4 порядка), чем у большинства других млекопитающих, что, вероятно, связано с их быстрым временем прохождения в кишечнике [387].

Аналогичным образом, исследования до настоящего времени не выяснили изменения фекальной микробиоты, если таковые имеются, с диетой у плотоядных животных, кроме кошек. Источники питания для норок клеточного содержания в значительной степени зависят от наличия источников белка, которые могут существенно изменяться из года в год или даже от сезона к сезону, и неясно, влияют ли изменения рациона на микробиоту кишечника этих животных. Таким образом, существует необходимость более полного понимания роли микробиоты кишечника у

плотоядных, в частности у пушных зверей, в условиях промышленного звероводства.

Знание микробиоты желудочно-кишечного тракта других сельскохозяйственных видов было использовано для оптимизации различных производственных параметров и улучшения общего состояния животных. Было показано, что цыплята устойчивы к *Brachyspira sp.* – патология при пероральной инокуляции *Lactobacillus reuteri* [332].

Как дженерические, так и курспецифические пробиотики повышали общую продуктивность цыплят-бройлеров, причем курспецифический пробиотик оказывал более выраженное действие [374].

Аналогичным образом, поросята с добавлением *Pediococcus acidilactici* демонстрировали более высокую массу тела, ежедневный прирост массы тела после отъема и увеличенное количество пролиферирующих энтероцитов по сравнению с необработанным контролем [269].

Исследования того, как микробиота выращиваемой норки может быть оптимизирована для улучшения здоровья и производственных параметров, в условиях промышленного звероводства еще не проводились и являются перспективными.

Исследования Compo N.R. (2018), состояли в том, чтобы охарактеризовать фекальную микробиоту промышленно выращенной на канадских фермах норки, и с полученными данными сравнить микробиоту взрослых самок и отъемных детенышей летом, взрослых самок осенью, а также определить, является ли фекальная микробиота аналогичной на уровне фермы из года в год. Основываясь на результатах других видов млекопитающих, авторы предположили, что преобладающими типами в фекалиях норок будут Firmicutes и Proteobacteria, и что взрослые самки и отнятые детеныши будут иметь аналогичную фекальную микробиоту, особенно в пределах фермы. Также, авторы предполагали, что из-за различий в питании, влияния летнего теплового стресса и измененного питания

перезимовавших самок, сохраненных для размножения, будут наблюдаться значительные различия между летними и зимними результатами [261].

Преобладающим бактериальным типом в фекалиях норки клеточного содержания в целом, независимо от года, стадии жизни или сезона, был Firmicutes. Тем не менее, Firmicutes сопровождается гораздо большей долей протеобактерий, чем сообщалось ранее у здоровых собак, кошек и других плотоядных животных (34% против <15%) [286, 336, 370, 376].

Это согласуется с высоким относительным обилием как Firmicutes, так и Proteobacteria, обнаруженных в фекалиях норки Bahl et al. (2017), но в отличие от работы Zhao H. и др. (2017), в котором более высокое общее относительное обилие протеобактерий наблюдалось в фекалиях норок, хотя последние использовали другую методику (амплификация области V3, а не V4 принятую за эталон), что может объяснить, по крайней мере, частично, отсутствие согласия между исследованиями [238, 391].

Как видно у других млекопитающих, при сравнении микробиоты между взрослыми и молодыми отлученными животными было выявлено несколько существенных различий.

На уровне порядка организмы из лактобацилл составили более одной трети от общего числа бактериальных последовательностей, идентифицированных из фекалий норки, более чем в два раза больше следующего наиболее распространенного порядка – Ксантомонадалес (Xanthomonadales). Лактобациллы, род *Lactobacillus*, состоят в основном из группы аэротолерантных анаэробных бактерий, продуцирующих молочную кислоту в качестве конечного продукта углеводного брожения. Это неожиданное открытие, так как предыдущие исследования, характеризующие фекальную микробиоту кошек и свиней, обнаружили значительно более низкое относительное обилие и общее количество молочнокислых бактерий, соответственно, а также значительное возрастное снижение этих бактерий. Compo N.R. (2018) утверждает, что результаты последнего исследования

противопоставляются данным других авторов, например, Frese et al. (2016), которые обнаружили значительное увеличение относительной численности молочнокислых бактерий в период от кормления до отъема. В исследовании Compro N.R. (2018), несмотря на то, что детеныши после отъема имели более высокую общую долю лактобацилл, чем взрослые самки, эта разница не была существенной. Интересно, что в то время как относительное обилие лактобацилл не было существенно различно между группами, специфические микроорганизмы родов *Lactococcus* и *Lactobacillus* были в большом количестве у отъемышей, чем у взрослых самок [261].

Исследование Zhao H. (2017) предусматривало изучение кишечной микробиоты семейства Mustelidae. В этом исследовании автор проводил эксперименты на 40 норках обоих полов из Северо-Восточного Китая, которые были разделены на три группы и выращивались до достижения половой зрелости. Область V3 генов 16S рРНК была амплифицирована и секвенирована с использованием NGS. Было 526 OTU (пар оснований), в основном сосредоточенных среди пяти бактериальных типов. Результаты этого исследования дают новые фундаментальные знания о составе кишечной микробиоты норок, выращиваемых в Северо-Восточном Китае, которые могут способствовать общему благополучию норок во всем мире [391].



## 1.7 Лечебно-профилактические мероприятия при паразитозах пушных зверей

Паразитарные болезни имеют широкое распространение на территории Северо-Западного региона РФ, несмотря на ежегодно проводимые лечебно-профилактические мероприятия. Одной из актуальных проблем современной ветеринарной медицины является поиск экономически доступных, безопасных и эффективных средств для лечения и профилактики инвазионных болезней животных.

Дорошева А.М. (2010) проводила эксперименты в Московской области по изучению эффективности разных антигельминтиков на различных видах пушных зверей и установила терапевтические дозы, ЭЭ и ИЭ. Так, она установила, что: «препарат фенбендазол эффективен в дозе 100 мг/кг однократно; диронет – в дозе 1/2 таблетки на 5 кг живой массы однократно (ЭЭ=100% при ИЭ=100%); абиктин – в дозе 10 мг/кг двукратно (ЭЭ=90% при ИЭ=98,2%); универм – в дозе 100 мг/кг двукратно (ЭЭ=100% при ИЭ=100%); у соболей – фендазол в дозе 100 мг на кг ж.м. (по ДВ) однократно (ЭЭ=100% при ИЭ=100%); у американских норок – фендазол в дозе 100 мг на кг ж.м. по ДВ) однократно (ЭЭ=100% при ИЭ=100%)» [63].

Против протозоозов песцов Дорошева А.М. (2010) предложила использовать у песцов препараты: «байкоккс 2,5% в дозе 7 мг/кг ж.м. (0,3 мл на кг), 2 раза в день 2 дня подряд, повтор в тех же дозах через 5 дней и макмирор в дозе 15 мг/кг ж.м. (по ДВ), 2 раза в день 7 дней подряд. ЭИ и ИИ в обоих случаях составила 100%» [63].

Бабин Н.А. (2002) разработал лечебно-профилактические мероприятия против ассоциативных инвазий пушных зверей в Ямало-Ненецком автономном округе. «Наилучший экономический эффект был получен при обработке зверей альбавермом или аверразином. По мнению автора, с целью терапии и защиты пушных зверей от гельминтозов и саркоптоиозов перспективно использование макроциклических лактонов (аверсект-2 и

аверсект-3, иверсект и цидектин) однократно в дозах 1 мл/50кг м.ж., обеспечивающих гибель 78,4-100% основных видов гельминтов и клещей-кожеедов. Аверазин и альбаверм обеспечивают полное освобождение организма лисиц и песцов от унцинарий, токсаскарисов, токсокаров и тениид» [12].

Герасимчик В.А. (2008) установил, что: «эффективность лечения больных эймериидозами норок и хорьков *per os* клинакоксом в дозе 0,2 г/кг м.-т. 96,8%, саноксом-микрогранулятом – 0,2 г/кг м.-т. 92,5%, синвертасом -12% – 0,4 г/кг корма 86,4% и кокцидиомицином – 8 г/кг корма 91,3%; больных изоспорозом лисиц: кокцидиомицином – 2 г/кг м.-т. 87,2%, гитином – 1 мл/кг м.-т. 82,3% и сакоксом-120 – 0,2 г/кг м.-т. 92,2%» [37].

При нематодозах Герасимчик В.А. предлагает обрабатывать больных токсаскарозом песцов альбендазолом 2,5% – 0,4 мл/кг ж.м.т. 100%, левамизолом 7,5% – 0,2 мл/кг ж.м.т. *per os* и 0,1 мл/кг внутримышечно 100%, аверсектом-2 в дозе 0,2 мл на кг ж.м.т. (0,4 мг/кг м.т. по АДВ) 100%, фенбенатом 4 % – 0,5 г/кг ж.м.т. 100% и универмом – 0,1 мг/кг ж.м.т. (по АДВ) 100%; Герасимчик В.А. (2008) установил, что: «при ассоциированной изоспорозно-токсаскарозной инвазии у лисиц он же предлагает использовать рубифен – 0,1 мл на 2 кг ж.м.т. дважды 100% и клинакокс – 0,2 г на кг ж.м.т. 5-дневным курсом 96,3%, а также тетрализол гранулят 20% – 0,04 г/кг корма однократно 100% и салиномицин-120 – 0,4 г/кг корма 7-дневным курсом 91,6%» [37, 39].

Высокой эффективностью при гельминтозах пушных зверей обладает препарат на основе фенбендазола, в форме панакура гранулята 22,2%. Исследователи рекомендуют задавать его в дозе 0,005-0,015 г/кг ж.м.т. однократно. Эффективность обработки этим препаратом против токсокароза у песцов составляет – 90%, а при анкилостомозе – 100% [109].

При гельминтозах песцов и лисиц используют препарат мебендазол, в дозе 0,025-0,05 г на животное, максимум терапевтического действия его наступает между 9-24 часами после использования [25, 27, 54, 123, 168, 225].

По данным Подушкиной М.А. (2004) высокой антигельминтной эффективностью при нематодозах пушных зверей обладают такие препараты, как азинокс-плюс, верметан, абантел и фебтал [166, 168].

Ранее для лечения и профилактики нематодозной инвазии часто внутримышечно использовали левамизол в дозе 1 мл/10 кг м.ж. однократно, а также перорально в тех же дозах, но два дня подряд [174]. Данный препарат даже использовали в качестве иммуностимулятора. Однако из-за различных побочных эффектов все реже его используют в практике.

Важно отметить, что целый ряд высокоэффективных препаратов обладает доказанным иммунодепрессивным действием, к таким препаратам относятся: ивермектин, тетрализол, пирантел, тивидин и др. [10, 137, 150, 223, 222].

Тем не менее, многие авторы указывают на необходимость комплексного подхода к проведению дегельминтизации в звероводческих хозяйствах с применением комплекса препаратов и использование лекарственных средств, обладающих иммуностимулирующими свойствами. Таким образом, повышая иммунную реактивность организма введением иммуномодуляторов и различных стимуляторов, можно добиться повышения эффективности дегельминтизации и нивелировать негативные последствия от применения противопаразитарных препаратов.

Так, по данным J. Soltys et al., (2012), применение иммуномодулятора на лабораторных животных позволило увеличить количество иммуноглобулинов в крови при экспериментальном токсокарозе [366].

Эксперимент, проведенный Мамыковой О.И. (1998) показал, что применение панакура с иммуномодулятором мебикаром восстановило число

T- и B-лимфоцитов в периферической крови, а также профилактировало повторное заражение нематодами [137].

Сочетанное применение антигельминтика тетраимизола и иммуностимуляторов с пробиотиком (мебикара и пектина) способствовало повышению иммунобиологической реактивности животных, спонтанно заразившихся гельминтами [225].

С целью лечения болезней, вызываемых арахноэнтомозами, используются инсектоакарицидные препараты в различных формах. Для уничтожения ушного клеща используют инсектоакарициды в форме капель, мазей, растворов для инъекций [13].

«Эктопаразиты способны вызывать тяжелые патологические состояния у животных, а также являются переносчиками возбудителей инфекционных и инвазионных болезней, особенно блохи и клещи. При эктопаразитозах животные испытывают зуд, беспокойство, развиваются дерматиты, снижается резистентность организма, что приводит к трансформации полезных качеств и даже гибели и, как следствие, наблюдается значительный экономический ущерб» [40, 88].

«Исследования показали эффективность и безвредность использования двух акарицидных препаратов из группы макроциклических лактонов: иверсекта и аверсекта-2. Как установлено, они обладают системным действием и могут быть рекомендованы для лечения и профилактики отодектоза у песцов из расчета 150 мкг на 1 кг живой массы в виде подкожной инъекции 0,05%-го масляного раствора иверсекта и 200 мкг/кг 1%-го раствора аверсекта-2 [93].

Малахова Е.И. и Шубадеров В.Я. (2011) предложили для борьбы с саркоптоидозом животных новое лекарственное средство на основе композиции действующих веществ (S-фенвалерат, диметилсульфоксид, глицерин, изопропиловый спирт, полиэтиленгликоль, феноксиэтанол и воду),

по данным авторов данный состав обладает 100% акарицидным действием на *P. cuniculi* [135].

Одним из примеров могут послужить инсекторепеллентные препараты на основе фипронила и/или перметрина.

Заренкова В.В., Засыпкин О.Ю., Удавлиев Д.И., Бондаренко В.О., Карадурдыев Р.А. (2016) проводили изучение инсектоакарицидных свойств комплексного препарата на основе фипронила и перметрина в отношении основных эктопаразитов домашних и диких плотоядных животных. В эксперименте использовали голодных имаго комнатных мух *Musca domestica* 4-5-суточного возраста, а акарицидную активность комплексного препарата изучали на клещах *P. cuniculi*. Определяли акарицидное действие препарата в концентрациях 0,01; 0,005; 0,0001; 0,00005; 0,000001% по совокупности ДВ. «В результате проведенных исследований установлено, что в отношении клещей *P. cuniculi* СК<sub>50</sub> испытываемой композиции составила 0,001674975%, а в отношении комнатных мух *M. domestica* СК<sub>50</sub> при топикальном нанесении составляет 0,00225%, а ЛД<sub>50</sub> – 0,036 мкг/особь (по ДВ)» [78].

«Многочисленные исследования направлены на изучение эффективности данных препаратов, «однако нежелательным эффектам и отдаленным последствиям применения данных препаратов не уделяется особого внимания. Тем не менее, в настоящее время существует довольно большой объем данных по исследованию токсических свойств перметрина, фипронила и других химических репеллентов. Описана клиническая картина острой и хронической интоксикации. Более того, имеются данные о кумулятивных свойствах данных химических соединений» [40].

Герасимчик В.А., Еремеев Е.С. (2018) установили, что: «в отличие от проведенных ранее исследований по изучению токсичности фипронила и перметрина, описаны их гематотоксические эффекты при накожном нанесении, отмечено клиническое проявление нежелательных эффектов в виде местных кожных аллергических реакций, обострения хронического

дерматита и развития септических процессов в области контакта с инсектоакарицидными ошейниками, выявлены метаболические нарушения в организме подопытных животных (собак и крыс) при однократном использовании препаратов, а также доказано длительное сохранение их остаточных количеств в организме животных при использовании в форме капель на холку и инсектоакарицидных ошейников» [40].

«В последние годы появились данные по разработке экологически безопасных инсектоакарицидных препаратов на основе природных биологически активных веществ (БАВ). Подобные препараты получили высокую оценку при испытании против тлей и клещей плодово-ягодных садовых культур растений. Учитывая ряд сходных особенностей в физиологии и биологии вредителей растений и эктопаразитов животных, актуально создание и испытание препаратов такого ряда, обладающих широким спектром действия для нужд животноводства» [40], в частности для борьбы с арахноэнтомозами пушных зверей.

Ятусевич А.И. и Авдаченок В.Д., (2017) из Белоруссии предложили применение против арахноэнтомозов пушных зверей композиции, изготовленной из сырья лекарственного растительного сырья (пижма обыкновенная, аир болотный, щавель конский, вахта трехлистная, полынь горькая, душица обыкновенная, чемерица Лобеля, зверобой продырявленный). По мнению авторов, «применение фитопрепаратов экономически выгодно и позволяет создавать определенную независимость на фармакологическом рынке внутри Республики Беларусь, а также экологически оправдано и безопасно для здоровья людей» [229].

Литвинова В.А. (2002) описала действие «Цидектина» при двукратном подкожном введении с интервалом 10 дней в дозе 200 мкг/кг живой массы, который обеспечивает полное выздоровление голубых песцов от отодектоза. Использование «Себацила» в форме 0,1%-й водной эмульсии при двукратной

аппликации с интервалом 8 дней является эффективным средством при лечении голубых песцов, больных отодектозом [132].

Давлетшин А.Н. (2000) в своей работе указывает, что: «для обработки больных отодектозом клеточных пушных зверей, а также собак и кошек эффективно использование 2%-й водной эмульсии и 0,5%-го масляного раствора этафоса, 0,5%-х водной эмульсии и масляного раствора циодрина, миноцида, нитроксана; 0,01%-х водной эмульсии и масляного раствора эктомина; 0,005%-х водных эмульсий и масляных растворов дециса, бутокса; 0,1%-й водной эмульсии и 0,05%-го масляного раствора стомозана, 0,05%-х водной эмульсии и масляного раствора цимбуша; 0,1%-х водной эмульсии и масляного раствора байтикола, неоцидола; препаратов ансем, аэрозоль-циодрин и эктозоль двукратно с интервалом 7-10 дней» [52].

Данные литературы свидетельствуют о наличии ограниченного количества высокоэффективных препаратов для противопаразитарной обработки норок, песцов и лисиц, больных инвазионными болезнями. Многие из описанных выше препаратов устарели, к некоторым, по всей видимости, у паразитов выработалась устойчивость, наиболее это заметно среди противопротозойных препаратов. Большинство из них направлены на борьбу либо с простейшими, либо с нематодозами или арахноэнтомозами. Однако, одних только лечебно-профилактических обработок животных недостаточно, необходим комплекс мер направленных на сдерживание распространения и борьбу с инвазионными болезнями пушных зверей, а также уничтожение яиц и личинок паразитов во внешней среде.

Проведение выборочных обработок животных, либо обработка их без осуществления ветеринарно-санитарных мероприятий не дает желаемого результата. К таким мероприятиям относятся: соблюдение зооветеринарных стандартов содержания животных, тщательная и регулярная механическая очистка клеток и пространства под ними от фекальных масс, плановая химиопрофилактика всего поголовья, дезинфекция, дезинсекция, дератизация территории на которой содержатся пушные звери.

## 1.8 Девастация и дезинвазия при эймериидозах и гельминтозах

Во второй половине позапрошлого столетия и в XX в. интенсивно развивалась паразитологическая наука. Особенно бурное развитие получила гельминтология благодаря работам ее основоположника – К.И. Скрябина. Ученый в 1945 г. выдвинул идею о всеобщем наступлении на гельминтозы.

Тогда и появился термин «девастация» (от лат. *devastatio* – опустошение, истребление). К.И. Скрябин дал такое определение: «Методы наступательной активной профилактики, направленные на истребление, уничтожение возбудителя заболевания на всех фазах его жизненного цикла всеми доступными способами механического, химического, физического и биологического воздействия». «Термин «презервация» (от лат. *pre* – до, *servatio* – охранять, предотвращать), по определению ученого, включает в себя комплекс оборонных, защитных, профилактических мероприятий, направленных на предотвращение заражения человека и животных возбудителями паразитарных болезней. Таким образом, при оздоровлении человека и животных от гельминтозов используют оба метода – девастацию (наступление) и презервацию (оборону)» [191].

Успех проведения девастационных мероприятий достигается путем применения химиотерапевтических (противопаразитарных) препаратов научно обоснованным методом, учитывая приспособляемость паразитов к «воздействию специфических химических веществ на инфекционный и инвазионный процессы; дезинвазии внешней среды – направленным уничтожением возбудителей во внешней среде всеми доступными средствами и способами; дезинсекции – истреблением насекомых – паразитов, вредителей или переносчиков инвазионного начала; дератизации – истреблением мышей, крыс и других наносящих хозяйству вред грызунов – переносчиков и естественных резервуаров ряда инфекционных и паразитарных возбудителей» [191]. Современное разведение пушных зверей предусматривает



значительную концентрацию поголовья на ограниченной площади, что способствует распространению инвазионных болезней.

Тем не менее, изучение биологического цикла развития паразитов и эпизоотологических данных послужило основанием для разработки лечебно-профилактических мероприятий, включающих: дегельминтизацию, зоогигиенические и ветеринарно-санитарные меры. А предложенное реконструирование клеток, с приподнятием сетчатого пола над землей, в сочетании со специфическими мерами не только снизило, но и уничтожило целый ряд биогельминтозов на звероводческих предприятиях [114, 146, 191].

Таким образом, содержание зверей в клетках с приподнятым сетчатым полом является основным фактором, тормозящим массовое распространение токсокароза, однако без соблюдения плана лечебно-профилактических мероприятий, снижения зараженности животных достигнуть не удастся [204].

Ооцисты эймериид сохраняют свою жизнеспособность в экстремальных условиях внешней среды, так в своей работе Кузнецов Ю.Е., (2012) впервые установил роль талого снега, как фактора передачи возбудителей эймериидозов в зверохозяйствах Ленинградской области [109].

Поэтому, перед учеными во всем мире стоит не простая задача, разработать эффективное средство для уничтожения ооцист кокцидий и яиц гельминтов во внешней среде. На сегодняшний день, к таким веществам можно отнести только 40% р-р формальдегида или 20% р-р щелочи, однако эти вещества имеют существенные недостатки и практически не используются при производстве пушнины. К таким недостаткам можно отнести: канцерогенность, стойкий не приятный запах, агрессивность по отношению к оборудованию, токсичность для окружающей среды, помимо того в малых концентрациях они не только не уничтожают ооцисты и яйца гельминтов, а наоборот, способствуют споруляции и консервации их во внешней среде [37].

Для того, чтобы разработать вещество, которое бы эффективно уничтожало инвазионное начало в окружающей среде, необходимо

разобраться в природе ооцист кокцидий, что именно позволяет им оставаться устойчивыми к большинству известных дезинфицирующих растворов.

Скорее всего такая устойчивость связана со строением и составом оболочек ооцист кокцидий, она состоит из: белка – 67%, углеводов – 19% и жира – 14%. Наружная оболочка состоит из липидного слоя, внутренняя оболочка состоит из гликопротеидов, они образуют связи (кластеры), которые надежно защищают внутреннее содержимое ооцист. Внутренняя оболочка, состоящая из белков, устойчива к воздействию кислот и щелочей высокой концентрации, наружная оболочка защищает ооцисту от механического воздействия [37, 146, 214].

Однако многим ученым удалось продвинуться в данном направлении. Так было установлено, что некоторые вещества способны останавливать развитие ооцист кокцидий во внешней среде, т.е. не позволяет им протрофулировать и стать инвазионными. К таким веществам относятся: 5% р-р углекислого натрия, 0,05% фенола, 7% р-р аммиака, 5% р-р карболовой кислоты. Ярким выраженным дезинвазирующим эффектом обладают также 10% р-р однохлористого йода, подогретый до температуры 70°C, дихлорбензол в концентрации 1:400, 5% эмульсия дезинона при температуре 70-80°C [37, 231, 232].

Яйца гельминтов также обладают высокой устойчивостью во внешней среде. Так по данным Петрова А.М., Герасимчик В.А., Боровковой А.М., Любимова П.М., яйца токсокаридов и токсокар в почве сохраняются не менее 370 дней, способны перезимовывать, однако при нахождении на солнце погибают в течение 3-х дней [37].

Несмотря на многочисленные попытки ученых по всему миру разработать высокоэффективное средство для обеззараживания окружающей среды от ооцист кокцидий и яиц гельминтов и разработки мер дезинвазии, данный вопрос по-прежнему остается открытым. На сегодняшний день у нас

нет надежного способа и общепризнанного метода для дезинвазии внешней среды, для обработки клеток, шедов и домиков на звероводческих фермах.

**Выводы.** Согласно проведенному анализу и обработке литературных данных нам удалось установить, что:

1. Изучением паразитофауны пушных зверей занималось достаточно много ученых по всему миру, однако данный вопрос освещен гораздо слабее и более противоречивее, по сравнению с другими видами животных.
2. Внимание данной проблеме в условиях Северо-Западного региона полноценно не уделялось уже более 20 лет, есть лишь обрывистые сведения по распространению протозоозов и гельминтозов среди плотоядных животных в Республике Карелия, на остальной же территории региона данная тема по-прежнему недостаточно изучена.
3. Согласно имеющейся литературе, на сегодняшний день у норок известно 7 видов эймерий и 3 вида изоспор. Однако многими учеными существование некоторых из них, как самостоятельных видов ставится под сомнение. В связи с этим, молекулярно-генетические исследования позволяют с высокой достоверностью решить вопрос о таксономической самостоятельности того или иного вида эймериид.
4. Инвазионные болезни пушных зверей часто протекают в виде микстинвазии, с ассоциацией эймеридами, гельминтами, бактериозами и вирусозами. Это необходимо учитывать при разработке лечебно-профилактических мероприятий.
5. Изучением патогенеза и симптоматики инвазионных болезней занималось достаточно много ученых. Однако, как правило, их исследования проводились при моноинвазиях, тогда как при микстинвазиях нематодозов, протозоозов и арахноэнтомозах исследования не проводились.
6. Проблема регуляции иммунной реактивности имеет большое значение как в теоретическом, так и практическом аспектах. Поиск новых

иммуноактивных препаратов является одним из актуальных вопросов ветеринарной медицины.

7. На сегодняшний день имеется в наличии ограниченное количество высокоэффективных противопаразитарных препаратов для обработки норок, песцов и лисиц, больных инвазионными болезнями. Многие из описанных выше препаратов устарели, к некоторым по всей видимости у паразитов выработалась устойчивость.

8. Более глубокое изучение взаимодействий паразита и микробиоты также будет иметь важное значение для прогнозирования течения болезни и последствий для здоровья при применении конкретных препаратов против паразитов и антибиотиков.

9. Многие исследования также доказывают, что паразитарная инвазия может изменить кишечное микробное разнообразие. Поскольку считается, что низкое разнообразие микробиоты является важным фактором в расстройстве пищеварения и этиологии воспалительных расстройств, такие эффекты могут оказывать опосредованное влияние на восприимчивость патогенных микроорганизмов. Однако направление, в котором гельминты изменяют микробное разнообразие кишечника, варьируется в зависимости от вида паразита и различных факторов.

10. Проведение выборочных обработок животных, либо обработка их без осуществления ветеринарно-санитарных мероприятий не дает желаемого результата. Необходим комплекс мер, направленных на сдерживание распространения и борьбу с инвазионными болезнями пушных зверей, а также уничтожение яиц и личинок паразитов во внешней среде.

11. Успех проведения девастиационных мероприятий достигается путем применения химиотерапевтических (противопаразитарных) препаратов. Несмотря на это разработка высокоэффективного средства для обеззараживания окружающей среды от ооцист кокцидий и яиц гельминтов и разработка мер дезинвазии по-прежнему, является актуальной задачей.

## ГЛАВА 2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа выполнена в период с 2012 по 2019 годы на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», лабораторные исследования по диагностике паразитозов пушных зверей проводились на кафедре паразитологии им. В.Л. Якимова, в лаборатории по изучению паразитарных болезней животных.

Особенности распространения паразитозов пушных зверей, экстенсивность и интенсивность инвазии, сезонную динамику при протозоозах, гельминтозах и арахноэнтомозах норок, песцов, и лисиц, а также изучение сравнительной эффективности некоторых противопротозойных, антигельминтных, инсектоакарицидных, противомикробных, иммуностимулирующих, пробиотических и антиоксидантных препаратов изучали в шести зверохозяйствах Ленинградской и Калининградской областях. Все хозяйства частные, имеют разный состав и численность поголовья животных.

Материалом для исследования послужили фекалии пушных зверей – норок *Neovison vison* (syn.: *Mustela vison*) Schreber, 1777; песцов *Vulpes lagopus* (syn.: *Alopex lagopus*), Linnaeus, 1758, лисиц *Vulpes vulpes* Linnaeus, 1758 и енотовидных собак *Nyctereutes procyonoides* Gray, 1834.

За время проведения обследования для изучения видового состава кишечных паразитов, ЭИ и ИИ всего был отобран материал от 7719 пушных зверей, в том числе взрослых животных: 6118 норок (1498 самцов, 1516 самок), песцов 1186 (346 самцов, 425 самок), лисиц 415 (98 самцов, 114 самок), молодняка норок – 3104, песцов – 415, лисиц – 203 животных.



Рисунок 2.1.1 Объекты исследований (а – норка, б – серебристо-черная лисица, в – песец, г – енотовидная собака)

Кроме того, исследовали смывы с объектов внешней среды, а также соскобы со слизистой оболочки кишечника павших и вынужденной убитых пушных зверей.

Диагностику животных на эктопаразитозы проводили с помощью наружного осмотра кожного и шерстного покрова норок и микроскопии соскобов.

Соскобы брали при помощи скальпелей, на которые получены патенты на полезную модель – «Устройство для взятия соскоба с кожи животного» и «Усовершенствованное устройство для взятия соскоба с кожи животного» (Приложение Г и Д).

Для диагностики арахноэнтомозов у пушных зверей использовали следующие методы: Фридберга и Френера, Шика Г.З., Приселковой А.М., Шустровой М.В. с соавт. [221].

Прижизненную диагностику паразитозов проводили методами, последовательных промываний, нативного мазка, седиментации, флотации по Фюллеборну (1920), Дарлингу, Котельникову и Хренову (1972, 1974), а также по Дарлингу с применением универсальной флотационной диагностической жидкости – «Жидкость для диагностики ооцист кокцидий, цист балантидий и жиадий, яиц гельминтов разных классов, клещей, насекомых, их отдельных стадий развития» (Приложение Б), и жидкости «Композиционная жидкость для диагностики ооцист и цист простейших».

Все гельминтоовоскопические методы осуществлялись по общепринятой методике.

Для подсчета количества ооцист простейших и яиц гельминтов использовали камеру Горяева и счетную камеру ВИГИС. ИИ определяли путем подсчета ооцист эймериид и яиц гельминтов в 10 п.з.м., и высчитывали среднее количество на одно п.з.м., в одном г фекалий и содержимом кишечника животных. Для световой микроскопии, полученных временных препаратов методом светлого поля материал, просматривали на тринокулярном микроскопе Микротон-200М производства ООО «ПЕТРОЛАЗЕР» и микроскопа Carl Zeiss Primo Star с визуализацией при увеличении (ок. 10х, об. – 10, 20 и 40) с насадкой Микрометр модель ОМП ЛОМО. Фоторегистрацию осуществляли при помощи камер микроскопов и смартфона Mi MIX 2 (Xiaomi). Исследования проводились согласно ГОСТу Р-54627-2011, методическим указаниям МУК 4.2.3145-13, а также руководствовались Государственным стандартом «Методы лабораторной диагностики кокцидиозов» (ГОСТ – 25383-82) [46, 50, 143].

Спорулирование ооцист эймериид осуществляли по методу Арнастаускене (1985) с использованием 2% раствора бихромата калия [9],

после концентрации и отмывания ооцисты помещались в данном растворе в термостат при температуре 25-28°C, после этого ежедневно ооцисты прямо в чашках Петри просматривались под микроскопом. Получен патент РФ на полезную модель «Чашка Петри» RUS № 180046, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ от 31.05.2018 г. (Приложение Е).

Видовой состав простейших подтверждали молекулярными методами в лаборатории на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН) при помощи молекулярного метода: секвенирования и анализа гена малой субъединицы рибосомальной рибонуклеиновой кислоты (SSUrDNA). В исследовании использованы нуклеотидные последовательности эймериид, опубликованные в базе данных GenBank (GenBank + EMBL + DDBJ + RefSeq -AA или ДНК). Для этого морфометрию ооцист и генотипирование последовательностей проводили в двух локусах (ядерная 18S рДНК [SSUrDNA] и субъединица I митохондриальной цитохромоксидазы (mt COI) были проведены на 10 образцах, которые предварительно подвергали трехкратному замораживанию в жидком азоте при температуре -196°C перед экстракцией для разрушения стенок ооцист и высвобождения спорцист. Выделение и очистку геномной ДНК проводили с использованием химической экстракции с последующим очищением буферными растворами.

ДНК из образцов выделяли с помощью набора «Genomic DNA Purification Kit» («Fermentas, Inc.», Литва) согласно рекомендациям производителя. Концентрацию полученной ДНК оценивали с использованием спектрофотометра и хранили при 4°C для немедленного использования или -20°C для последующего использования. ДНК извлекали из десяти образцов размером 5-6 мкм из фиксированной в формалине парафиновой ткани (FFPE), используя QIAamp DNA FFPE Tissue Kit (Qiagen), в соответствии с инструкциями производителя.



Области из nu 18SSUrDNA и митохондриальной ДНК субъединицы I цитохромоксидазы (mt COI) амплифицировали с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) из каждого образца с использованием следующих праймеров: V4F CCAGCASCYGC GGTAATTCC, V4RB ACTTTCGTTCTTGATYRR Balzano S, et al. (2015), COI\_10F GGWDSWGGWRYWGGWTGGAC, COI\_500R CATRTGRTGDGCCCAWAC Ogedengbe et al. (2011) [333, 341, 342].

ПЦР-амплификацию проводили в реальном времени в ДНК амплификаторе Real-Time - Verity («Life Technologies, Inc.», США) для всех образцов в объеме 25 мкл, содержащих ~ 100 ng для 45 геномной ДНК, 1 × ПЦР-буфер, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM дезоксирибонуклеотидтрифосфаты (dNTP), 400 нМ каждого праймера и 1 ед. Полимеразы TaqDNA Invitrogen Platinum (Thermo Fisher Scientific, Toronto, ON, Canada). Реакции проводили на термоциклере Bio-Rad T100 (Bio-Rad Laboratories, Сингапур). Образцы денатурировали и активировали Taq polymerase при 95°C в течение 3 мин, затем подвергали 35 циклам при 94°C в течение 30с, отжигу при 56-62°C в течение 30с и удлинение цепочки при 72°C в течение 30-75 сек с последующим удлинением при 72°C в течение 7 мин. После чего все продукты амплификации подвергали электрофоретическому разделению с использованием 1,5% подводного агарозного геля, окрашивали бромидом этидия и визуализировали на ультрафиолетовом трансиллюминаторе и разделяли с помощью электрофореза в агарозном геле с флуоресцентной детекцией, после чего анализировали с использованием автоматического секвенатора CEQ 8000 («Beckman Coulter», США) согласно рекомендациям производителя. Погрешность прибора CEQ 8000 составляла не более 5%.

Учет результатов проводили путем вычисления размеров пиков и их площади с использованием программного блока в Geneious по общедоступным последовательностям на сервере BLAST

(blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). В эксперименте использовали норок, как зараженных эймеридами, так и интактных, которые служили контролем.

Исследования микрофлоры кишечника проводили общепринятыми культуральными методами. Идентифицировали выделенные микроорганизмы в лаборатории кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» в соответствии с методическими указаниями по лабораторной диагностике болезней животных (1982). Посевы и идентификацию микроорганизмов проводили согласно Приказа Минздрава СССР № 535 от 22.04.1985 г. об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинической диагностике лабораторных и лечебно-профилактических учреждений [177].

Микрофлору кишечника плотоядных изучали методом T-RFLP-анализа (Terminal restriction fragment length polymorphism). Бактериальную ДНК, извлеченную из образца кишечного содержимого, рРНК и ген 16S амплифицировали и обрабатывали методом ПЦР с использованием секвенатора с высокой пропускной способностью, с последующим исследованием полученных T-RFLP грамм по базам данных с помощью программы «Fragment Sorter» и проводили статистическую корреляцию и кластерный анализ. Все лабораторные исследования проводили в молекулярно-генетической лаборатории компании ООО "БИОТРОФ+". Изучение микробного сообщества микробиоты содержимого кишечника норок проводили с применением молекулярно-генетического метода T-RFLP-анализа, который включает в себя 5 этапов:

1. Выделение общей (тотальной) ДНК микроорганизмов с помощью набора «Genomic DNA Purification Kit» («Fermentas, Inc.», Литва) согласно рекомендациям производителя;

2. Проведение ПЦР-амплификации в реальном времени в ДНК амплификаторе Real-Time – Verity («Life Technologies, Inc.», США) с помощью

эубактериальных праймеров: 63F (CAGGCCTAACACATGCAAGTC) – с меткой на 5'-конце (флуорофор D4 – WellRed) и 1492R (TACGGHTACSTTGTTACGACTT);

3. Проведение очищения флуоресцентно меченных ампликонов гена 16S рРНК по стандартной методике. Затем проведение рестрикции 30-50 нг ампликонов 16S рРНК амплификата при помощи рестриктаз Hae III, Hha I и Msp I (в течение 2 часов при 37°C) следуя рекомендации изготовителя (“Fermentas”, Литва).

4. Проводили осаждение из реакционной смеси ДНК этанолом, растворение в SLS (Beckman Coulter) с добавлением маркера молекулярного веса – 600 п.н. (Beckman Coulter) и разделение с помощью электрофореза в агарозном геле с флуоресцентной детекцией. Проводили анализ с использованием автоматического секвенатора CEQ 8000 («Beckman Coulter», США) согласно рекомендациям производителя. Погрешность прибора CEQ 8000 составляла не более 5%.

5. Учет результатов при проведении данной работы проводили путем вычисления размеров пиков и их площади проводили с использованием программного блока Fragment Analysis (Beckman Coulter). Идентификацию бактерий и определение таксономической принадлежности микроорганизмов проводили с использованием программ Fragment Sorter (<http://www.oardc.ohio-state.edu/trflpfragsort/index.php>) и MG-RAST.

А также на базе ЦКП «Геномика» СО РАН (ИХБФМ СО РАН), где проводили секвенирование 16S и 18S ампликонов.

Секвенирование 16S ампликонов. Регион V3-V4 гена 16S рРНК был амплифицирован с помощью праймеров 343F (5'-CTCCTACGGRRSGCAGCAG-3') and 806R (5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'), содержащих адаптерные последовательности (Illumina), линкер и баркод [282]. Амплификацию проводили в 50 мкл реакционной смеси, содержащей 0.7 U Phusion Hot Start II

High-Fidelity and 1× Phusion GC buffer (Thermo Fisher Scientific), по 0.2 мкМ прямого и обратного праймеров, 10 нг ДНК, 2.3 мМ MgCl<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich) and 0.2 мМ dNTP (Life Technologies). Условия термоциклирования: первый шаг: денатурация 98 °С – 1 мин., далее 30 циклов: 98 °С – 15 сек, 62 °С – 15 сек, 72 °С – 15 сек, последний шаг: 72 °С – 10 мин. Ампликоны смешивали по 200 нг каждый и чистили в 1% агарозном геле с помощью набора MinElute Gel Extraction Kit (Qiagen). Секвенирование проводили в ЦКП «Геномика» СО РАН (ИХБФМ СО РАН) на секвенаторе MiSeq (Illumina), используя набор Reagent Kit v3 (2x300, Illumina).

Секвенирование 18S ампликонов. Регион V4 гена 18S рРНК был амплифицирован с помощью праймеров V4F (CCAGCASCYGC GGTAATTCC) и V4RB (ACTTTCGTTCTTGATYRR) [240], содержащих адаптерные последовательности (Illumina), линкер и баркод [282]. Амплификацию проводили в 50 мкл реакционной смеси, содержащей 0.7 U Phusion Hot Start II High-Fidelity and 1× Phusion GC buffer (Thermo Fisher Scientific), по 0.2 мкМ прямого и обратного праймеров, 10 нг ДНК, 2.3 мМ MgCl<sub>2</sub> (Sigma-Aldrich) and 0.2 мМ dNTP (Life Technologies). Условия термоциклирования: первый шаг: денатурация 98 оС – 1 мин., далее 30 циклов: 98 °С – 15 сек, 54 °С – 15 сек, 72 °С – 15 сек, последний шаг: 72 °С – 5 мин. Ампликоны смешивали по 200 нг каждый и чистили в 1% агарозном геле с помощью набора MinElute Gel Extraction Kit (Qiagen). Секвенирование проводили на секвенаторе MiSeq (Illumina), используя набор Reagent Kit v3 (2x300, Illumina).

После чего был проведен биоинформатический анализ. Полученные парные последовательности анализировались с помощью UPARSE скриптов [278], используя Usearch v11.0.667 [275]. Биоинформатическая обработка включала перекрывание парных ридов, фильтрацию по качеству и длине, учет одинаковых последовательностей, отбрасывание синглетонов, удаление химер и получение ОТЕ с помощью алгоритма кластеризации UPARSE [277].

Таксономическая принадлежность последовательностей ОТЕ определялась с помощью SINTAX [276] с использованием в качестве референсных баз 16S RDP training set v16 [383] и SILVA Small Subunit rRNA Database v.123 (eukaryotic 18S subset) [390]. Также дополнительно 18S ОТЕ анализировали blast с использованием nt (nucleotide collection) database. Анализ методом главных компонент (PCA) проводился с помощью библиотеки scikit-learn в python3 [347]. Для rarefaction анализа ОТЕ использовали iNEXT 2.0.15 в среде R [305]. Альфа и бета разнообразие анализировали Usearch v11.0.667 [282].

Иммунологические исследования проводили в клиничко-биохимической лаборатории ФГБОУ ВО СПбГАВМ. Естественную резистентность организма норок изучали по уровню лизоцимной, бактерицидной и фагоцитарной активности сыворотки крови. Исследование бактерицидной активности проводили по П.А. Емельяненко (1980) [66]. Определение активности лизоцима в сыворотке крови проводили по В.Г. Дорофейчук (1976) [62]. Фагоцитарную активность лейкоцитов определяли по методу А. Segal (1974) в модификации В.Я. Шатрова (1985). Оценку Т-системы иммунитета проводили методом спонтанного розеткообразования по Jondal (1972). Выделение лимфоцитов по методу А. Воум (1968), В-лимфоциты определяли по методу Е. Mendes (1973), определение теофиллинрезистентных и теофиллинчувствительных Т-лимфоцитов проводили, используя метод S. Limatibul et.al. (1978). Индекс иммунорегуляции вычисляли по отношению Т-хелперов к Т-супрессорам [149, 150, 196].

Сыворотку крови отделяли общепринятым методом, после чего исследовали на биохимическом анализаторе «Сапфир-400» (Япония) и Cell-Dyn (США).

Павших и вынужденно подверженных эвтаназии животных исследовали методом неполного гельминтологического вскрытия по К.И. Скрыбину (1928) [192].

Изготовление и изучение гистологических срезов с целью установления патоморфологических изменений проводили на кафедре биологии, экологии и гистологии ФГБОУ ВО СПбГАВМ и в лаборатории TLVet Path International Consultants – Animal Eye Consultants of Iowa (США). Для исключения болезней инфекционной этиологии были проведены иммуногистохимические исследования (ИГХ). Материал в виде парафиновых срезов от трех животных отправляли в Ветеринарно-диагностическую лабораторию Университета штата Мичиган (США), где проводили исследования.

Патоморфологические исследования кишечника больных норок, проводили гистологическими методами. Материалом для гистологических исследований служили участки пищеварительной трубки подопытных и контрольных животных. Отбор проб для гистологических исследований осуществлялся нами из различных отделов желудочно-кишечного тракта при плановом убое или при проведении патологоанатомического вскрытия подопытных животных. Образцы материала фиксировали в течение 7 суток в 10% забуференном формалине (марка ФМ ГОСТ 1625-89), (рН 6,8-7,0), количество которого в 10-20 раз превышало объем исследуемой пробы. После промывки в проточной воде с фиксированных образцов через всю толщину ткани вырезали кусочки толщиной 3-4 мм и обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (50, 75, 90, 100 и 100) с последующей заливкой в парафин по схеме, предложенной Г.И. Роскиным и Л.Б. Левинсоном (1957) [179]. Гистосрезы толщиной 4-6 мкм изготавливали из парафиновых блоков на санном микротоме. Для выявления микроскопического строения стенки пищеварительного тракта срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также применяли разработанный нами усовершенствованный метод по Шиффу для выявления эндогенных стадий эймерий.

Обезвоживание фиксированных образцов осуществляли в автомате для гистологической обработки тканей карусельного типа STP-120 (MICROM, Германия). Формирование парафиновых блоков осуществляли с помощью

станции заливки в парафин AP 280 (MICROM, Германия). Срезы толщиной 5-7  $\mu\text{m}$  изготавливали с помощью ротационного микротомы HM 320 E (MICROM, Германия) и системы переноса срезов STS, (MICROM, Германия), откуда их переносили на подготовленное предметное стекло и оставляли подсыхать на ночь. Депарафинизацию и окраску срезов гематоксилином и эозином осуществляли в автомате для окрашивания тканей линейного типа HMS 70 (MICROM, Германия).

Для иммуногистохимической диагностики использовали набор для визуализации АГ «REVEAL Biotin-Free Polyvalent DAB», (Spring Bio Science, США), согласно рекомендациям производителя. ИГХ-окрашивание проводили вручную, для предотвращения нежелательного испарения жидкости и высыхания стекол использовали специальную подставку с крышкой. Далее приводили схему ИГХ-исследования с использованием выше указанного набора для визуализации антигена (АГ).

Для блокирования эндогенной пероксидазы препараты на подставке покрывали раствором Hydrogen Peroxide Block и инкубировали 10 мин при температуре 18-25°C, затем стекла промывали 3 раза в фосфатно-буферном растворе (ФБР). Демаскировка АГ (раскрытие АГ) проводилась на водяной бане. Разогревали кювету с цитратным буфером (рН 6,0) до 95°C и помещали туда препараты срезов в держателе на 30-40 мин, затем контейнер со стеклами остужали при комнатной температуре (буфер не выливали) и промывали в двух порциях дистиллированной воды. Для блокирования неспецифического связывания раствор Protein Block (рН 7,6) наносили на стекла с образцами тканей и инкубировали 10 мин при температуре 18-25°C; по истечению времени связывания раствор стряхивали, срезы не промывали.

Инкубацию с первичными антителами (АТ) проводили следующим образом: анализируемые препараты тканей, в том числе «контроль ткани» инкубировали с АТ против вируса чумы плотоядных, коронавируса и алеутской болезни норки (Abscam, США) при температуре 18-25°C в течение

25-30 мин. Срез «контроль реакции» инкубировали с нормальной сывороткой кролика в том же рабочем разведении, затем все стекла трехкратно промывали ФБР.

Инкубацию со вторичными АТ проводили, покрывая препараты срезов тканей раствором конъюгата и инкубировали 15 мин при температуре 18-25°C, далее трехкратно промывали стекла ФБР.

Окрашивание образцов осуществляли раствором хромогена (на 1 см<sup>3</sup> субстрата (DAB Substrate) – 0,02 см<sup>3</sup> (1 капля) концентрированного хромогена (DAB Chromogen)), который наносили на срез ткани и инкубировали 7-10 мин при температуре 18-25°C без доступа света, затем стекла трехкратно промывали ФБР.

Докрашивание образцов проводили гематоксилином Майера в течение 3-5 мин при температуре 18-25°C, затем краситель удаляли, а предметные стекла помещали в дистиллированную воду на 3-5 мин. Перед заключением срезов под покровное стекло образцы тканей подвергали дегидратации, проводя препараты по спиртам различной концентрации: спирт этиловый 65% – 1-2 мин, спирт этиловый 80% – 1-2 мин, спирт этиловый 95% – 1-2 мин. Далее штатив со срезами помещали в ксилол на 1 мин, затем образцы подсушивали на воздухе 10-15 мин под вытяжным шкафом и заключали под покровные стекла.

Все перечисленные манипуляции повторяли три раза для выявления АГ вируса чумы плотоядных, коронавируса и алеутской болезни норок.

Результат ИГХ анализа оценивали под микроскопом, с использованием объективов с увеличением в 100 или 400 раз. ИГХ окрашивания в препаратах отрицательных контролей («контроль ткани» и «контроль реакции») не допускается. Результаты ИГХ реакции оценивали в крестах: - АГ вируса не обнаружен; + выявлены единичные очаги АГ вируса; ++ несколько очагов скопления АГ вируса; +++ множественные очаги скопления АГ вируса [79, 99].



Были проведены исследования качества волосяного покрова шкурок самцов и самок норки клеточного разведения, полученных от зверей с разной степенью ИИ эймериидозами. Объектами исследования служили шкурки самцов и самок норки в количестве 24 штук стандартного темно-коричневого (СТК) цветового типа. Шкурки были сняты трубкой с сохранением головы, лап и хвоста, законсервированы пресно-сухим способом. В ходе работы были изучены длина и толщина волос, высота, густота и коэффициент мягкости волосяного покрова, площадь и результаты сортировки шкурок норки в соответствии с требованиями ГОСТ Р 55587-2013 [45, 47, 48].

*Для определения показателей длины и толщины* волос шкурок темно-коричневой норки отбирали образцы в области хребта, черева и огузка, на каждом топографическом участке волосы делили на категории: остовой, переходный и пуховой. Средний показатель длины каждой категории волоса определяли методом прямого подсчета с точностью до 1 мм, а толщину (остевого и переходного волос в средней расширенной части) – под микроскопом при увеличении окуляра  $\times 7$  и объектива  $\times 40$  с точностью до 5 микрон. В каждой пробе на всех топографических участках шкурок самцов и самок норки было изучено по 25 волос каждой заявленной категории.

*Измерение длины волос.* Различают длину естественную и истинную. Естественная зависит от длины не расправленного (извитого или изогнутого) волоса, истинную длину устанавливают, измеряя выпрямленный волос. Значения показателей длины всех категорий волос выражают в мм.

*Измерение толщины волос.* Прежде чем приступить к измерению толщины волос устанавливают цену одного деления окулярного микрометра при помощи объективного микрометра обычно с ценой деления 0,01 мм, то есть 10 мкм. Все категории волос измеряются отдельно, толщина выражается в мкм.

*Измерение высоты волосяного покрова.* Высота волосяного покрова – это кратчайшее расстояние от кожного покрова до кончика кроющих волос, измеряют при помощи линейки, в мм.

*Определение густоты волосяного покрова.* Подсчет всех категорий волос, находящихся на 1 см<sup>2</sup> кожного покрова.

*Измерение коэффициента мягкости.* Под мягкостью волосяного покрова понимают степень упругости волос при сжатии или изгибе. Мягкость волосяного покрова – комплексный показатель и зависит от толщины и микроструктуры волос, отношения толщины стержня к его длине и количественного соотношения остевых и пуховых волос.

Коэффициент мягкости находится как отношение толщины остевых волос, выраженное в мкм, к их длине, в мм, умноженное на 10<sup>-3</sup>. Мягкость волосяного покрова шкурок выражали через коэффициент, т.е. отношение толщины волоса в его наиболее широком месте (микронах) к его длине в (мм). Чем меньше показатель, тем мягче волос.

$$K = D/L \cdot 10^{-3}, \text{ где}$$

D – средняя толщина остевого волоса (мкм),

L – средняя длина остевого волоса (мм).

*Определение площади шкурок.* Площадь каждой шкурки самцов норки определяли, как произведение длины шкурки (от междуглазья до корня хвоста) на удвоенную ширину шкурки, измеренную на ее середине, с погрешностью не более 0,5 см.

Доклинические испытания лекарственных препаратов проводили на базах ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии», согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [181, 182].

Все манипуляции с лабораторными животными выполнялись в соответствии с директивой №2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза «О защите животных, используемых для научных

целей» [59]. А также на основании Приказа МЗ СССР №755 от 12.08.1977 г «О правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных» [176].

Острую токсичность препарата «Эмидонол 10%» изучали на 60 белых крысах. Каждую исследуемую дозу препарата вводили 6 животным, двумя способами. Вначале препарат вводили в желудок с помощью металлического зонда в дозах: 3,0; 4,5; 6,0; 8,5 и 10,0 г/кг массы тела. Затем проводили внутрибрюшинные инъекции в дозах от 1,0 до 3,5 г/кг животного. Контрольные животные получали воду для инъекций в тех же объемах. За животными вели наблюдение в течение 2-х недель после введения препарата. [19, 20].

Субхроническую токсичность препарата «Эмидонол 10%» проводили на крысах-самцах и самках массой  $140,0 \pm 7,6$  г. Группы формировали методом случайной выборки по 10 животных в каждой. Крысам в течение 90 дней вводили перорально «Эмидонол 10%» в дозах 1/10 и 1/100 от  $LD_{50}$ . Животные контрольной группы находились в аналогичных условиях, но препарат не получали.

Для изучения кумулятивных свойств препарата «Эмидонол 10%» использовали метод, рекомендованный для нетоксичных соединений [20]. Препарат вводили в желудок белых крыс в дозе 1/5 от максимально-введенной пороговой дозы (МПД) 10, 15 г/кг, т.е. ежедневно вводимая доза составляла 2,0 г/кг, с постоянной корректировкой дозы в зависимости от массы тела животных. Учитывали, как материальную (гибель животных), так и функциональную кумуляцию. Длительность эксперимента была 15 дней. Всего использовано 3 МПД, которые были введены однократно.

Эксперимент по изучению эмбриотоксических свойств препарата «Эмидонол 10%» проводили в два этапа. Первый – на 5 взрослых самцах и 30 самках белых крыс с нормальным эстральным циклом. Самцам подопытной группы внутрибрюшинно однократно вводили «Эмидонол 10%» в дозе 100

мг/кг массы тела в объеме 1,0 мл. С целью определения доминантных летальных мутаций самцов на (1-й-14-й), (15-й-35-й), (36-й-49-й), (50-й-56-й), (57-й-72-й) дни после инъекции препарата спаривали с интактными самками и определяли время наступления беременности. На 20-й день мышей подвергали эвтаназии, после чего учитывали общую, предимплантационную и постимплантационную смертность.

Второй этап определения эмбриотоксического и тератогенного действия «Эмидонола 10%» проводили по методу Шицковой А.П. и др. (1977). С первого дня беременности крысы были распределены на 3 группы по 20 голов в каждой (2 группы – подопытные и одна – контрольная). Животным подопытных групп подкожно вводили «Эмидонол 10%» из расчета 20 мг/кг (терапевтическая доза) и 100 мг/кг массы тела (пятикратно увеличенная доза) [20].

Для определения эмбриотоксического действия препарат вводили в течение 17-18 дней, а для определения тератогенного – до конца беременности (21-23 дня). Крысы подопытных и контрольной групп содержались при свободном доступе к воде и пище, за животными всех групп вели ежедневное наблюдение, учитывая клиническое состояние, аппетит и поведение.

На 19-20-й день беременности методом дислокации шейных позвонков были умерщвлены по 10 крыс из каждой группы. После вскрытия у животных извлекали матку и яичники. С помощью стереомикроскопа МБС-9 подсчитывали число желтых тел беременности, в матке – количество мест имплантации живых и мертвых эмбрионов.

Доимплантационную, постимплантационную и общую эмбриональную смертность рассчитывали по методу Малашенко А.М. и Егорова И.К., (1967).

Тератогенное действие препарата изучали на полученном потомстве, учитывая массу плаценты, а также массу и размер крысят [181].

Кожно-резорбтивное действие препарата «Эмидонол 10%» изучали в повторном эксперименте на 20 белых мышах. Животных помещали в

контейнеры-домики, а их хвосты на  $2/3$  длины погружали в пробирки с препаратом на 2 часа. Животным контрольной группы хвосты погружали в воду. Эксперимент проводили 14 дней.

Раздражающее и аллергическое действие препарата «Эмидонол 10%» изучали на 5-ти кроликах породы «Шиншилла», согласно Руководству по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, 2007 [209].

В первой серии опыта проводили тестирование препарата в разных концентрациях, нанося его на выстриженные (3x3 см) участки боковой поверхности кожи кроликов 5 раз в неделю на протяжении 2-х недель. Ежедневная экспозиция – 4 часа, после чего препарат смывали водой. Реакцию кожи оценивали по шкале Суворова [19, 209].

Во второй серии опытов препарат в дозе, рекомендованной производителем, наносили на выстриженный левый бок кролика (участок кожи размером 4x4 см) на 4 часа, 5 раз в неделю, на протяжении 20 дней.

Первое тестирование по шкале оценки кожных проб проводили через 10 дней. Кроме того, выстригали шерсть на противоположном боку кролика и наносили препарат в той же дозе. Реакцию кожи анализировали через 24, 48 и 72 часа после смывания препарата. При отрицательном результате опыт продолжили и довели число аппликаций до 20, после чего проводили повторное тестирование.

Для количественной оценки сенсибилизации к препарату использовали иммунологический метод по выявлению реакции клеток крови на аллерген «*in vitro*» – реакцию дегрануляции тучных клеток (РНДТК) и реакцию гистаминового шока [19].

Исследование раздражающего действия препарата «Эмидонол 10%» на слизистые оболочки глаз проводили на 5 кроликах. В конъюнктивальный мешок правого глаза животных вносили 3 капли препарата. Левый глаз кроликов служили контролем. Оценку раздражающего действия проводили по

рекомендациям А. Maida и К. Chrusaielska через 1,2, 3, 4 и 24 часа, 3-7 и 15 суток, учитывая изменение кровенаполнения конъюнктивы, состояние роговицы и радужной оболочки, количество выделений из гла [209].

Эксперименты по изучению переносимости применения препарата «Эмидонол 20%» были проведены на норках. С этой целью из 120 голов молодняка норок было сформировано 3 группы (по 20 самцов и самок в каждой группе). Первой подопытной группе норок индивидуально применяли препарат «Эмидонол 20%» в течение 15 суток из расчета 0,5мл/кг ж.м.т. (пятикратно увеличенная терапевтическая доза), один раз в день, в течение 3 месяцев. Второй подопытной группе индивидуально применяли препарат в дозе 0,1 мл/кг ж.м.т. в течение 15 суток. Контрольным животным препарат не применяли. Взвешивание норок проводили до и в конце опыта. Оценку переносимости применения препарата проводили по весовым показателям, сохранности естественной резистентности, обменным процессам и биохимическим показателям у норок.

Сравнительную оценку острой токсичности препаратов «Стоп-кокцид», «Эймерм 5%» в виде суспензии и «Ваусох 5%» проводили на 190 инбредных белых мышах линии BALB/c, прошедших карантин в течение 14 суток. Все животные были рандомизированы по массе ( $20 \pm 1,5$ г) и разделены на группы по 10 животных (5 самцов и 5 самок).

Животных содержали в соответствии с «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» [184], на стандартном рационе с использованием экструдированного корма для лабораторных животных. Перед началом эксперимента животных выдерживали на голодной диете в течение 10 дней.

Для установления параметров острой токсичности препаратов Стоп-кокцид, производства ООО НПО «Апи-сан» (Россия), Эймерм суспензия 5%, производства ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита» (Россия), Ваусох 5% компании «Bayer Health Care AG» (Германия) каждый

препарат вводили мышам внутрижелудочно с помощью зонда в следующих дозах: 250, 500, 750, 1000, 1250 и 1500 мг/кг массы тела животного (по Д.В.), что соответствовало 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 и 0,6 мл на одну мышь или 5,10, 15, 20, 25, 30 мл/кг массы животного. Животные контрольной группы получали 1% раствор крахмала в эквивалентном объеме. Каждую дозу препарата вводили 10 животным [117].

Наблюдение за мышами проводили в течение 14 дней, при этом учитывали общее состояние и поведенческие реакции животных. Вычисления параметров острой токсичности препаратов проводили методом пробит-анализа.

Сравнительную эффективность кокцидиостатиков при эймериидозах норок проводили путем испытания препаратов «Стоп-кокцид», «Эйметерм 5%» в виде суспензии и «Байкокс 5%». Эксперимент был проведен на 72 спонтанно зараженных норках. В эксперименте участвовали животные, у которых наблюдалась микстинвазия. Животные были поделены на 4 группы (три – подопытные, четвертая – контрольная) по 18 норок в каждой. В своем составе все испытуемые препараты в 1 мл лекарственного средства в качестве действующего вещества содержат 50 мг толтразурила и вспомогательные компоненты. Все исследуемые препараты задавали животным в дозе 0,2 мл на 1 кг массы тела. Контрольная группа норок лечения не получала [117].

В экспериментах по изучению доклинических свойств препарата «Эпримек» участвовало три вида подопытных животных: 126 белых крыс, 40 белых мышей и 18 кроликов. Вес животных колебался для мышей – 18-28 г, у крыс – 200-220 г, у кроликов – 2700-3000 г [105, 110, 112]

В опыте участвовали клинически здоровые животные, которые предварительно выдерживались на 15-дневном карантине. Статистические группы состояли из 6-8 животных.

Для изучения острой и субхронической токсичности препарат при помощи металлического зонда вводили в желудок крыс в дозах: 5,0, 7,0, 9,0,

11,0 г/кг массы тела. Каждая доза вводилась 6 животным. Контрольным животным вводили воду. За животными устанавливали наблюдение в течение 2-х недель [105].

При изучении кумулятивных свойств препарата «Эпримек» мы определяли время гибели 50% животных ( $ET_{50}$ ) для этого использовали метод Lim Е.К. и соавторов (1961) [328], который предусматривает введение в условиях повторного эксперимента ( $24 \pm 4$  дня) первоначальной дозы, равной  $1/10 LD_{50}$ , с последующим увеличением через каждые 4 дня в 1,5 раза. Учитывали, как материальную (гибель), так и функциональную кумуляцию (функциональные изменения) [94].

Раздражающее и аллергическое действие препарата «Эпримек» изучали на 6 кроликах породы «Шиншила». Препарат наносился на выстриженные участки кожи кроликов, на правой части туловища, размером 3×3 см на протяжении 2-х недель. Реакцию кожи оценивали по шкале Суворова. Во второй серии опыта, препарат наносили на левую сторону туловища, размером 4×4 см при экспозиции 4 часа, 5 раз в неделю, на протяжении 20-ти дней [19, 102, 209].

Исследования раздражающего действия препарата на слизистые оболочки глаз проводили на кроликах. Препарат в количестве 3-х капель вводили в конъюнктивальный мешок правого глаза. Наблюдение за состоянием животных проводили в течение 2-х недель.

Для количественной оценки сенсibilизации использовали тест для выявления реакции клеток крови подопытных и контрольных животных на аллерген *in vitro* – реакция специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ).

Кожно-резорбтивное действие препарата «Эпримек» изучали на 20 белых мышах (по 10 в контроле и под опытом). Хвосты подопытных мышей погружали в исследуемый препарат на 2 часа ежедневно, на протяжении 2-х недель [102].



Функциональное состояние центральной нервной системы оценивали по величине суммационно-порогового показателя. Использовался прибор СПП-01-М. Нервно-мышечную возбудимость животных определяли с помощью электродов по сокращению межпальцевых мышц с увеличением подачи тока [195]. Динамическую двигательную активность определяли с помощью «вертикального» двигательного компонента, который основан на подсчете количества вставаний животных на задние лапы за 3 минуты. Для оценки статической мышечной работоспособности применяли метод удерживания животных на горизонтальном стержне, учитывая длительность пребывания животного на нем [19, 139].

При изучении биологического действия препарата в повторном эксперименте учитывали условия и дозы, предлагаемые разработчиками в «Инструкции по применению «Эпримека». Были испытаны дозы – 200 мкг/кг, 300 мкг /кг (терапевтические) и в 2-3 раза больше – 600 мкг /кг. Препарат вводили внутримышечно. Крысам контрольной группы вводили 0,9% раствор натрия хлорида.

На протяжении всего эксперимента по изучению доклинических испытаний препарата «Эпримек» животных обследовали, используя интегральные и специфические показатели. В качестве интегральных показателей были взяты – определение массы тела, оценка общего анализа крови (ОАК), температура тела, весовые коэффициенты внутренних органов. Специфическими можно считать оценку функционального состояния центральной нервной системы, печени, почек [110, 139].

При проведении доклинических испытаний препарата «Эпримек» ОАК лабораторных животных оценивали на гематологическом анализаторе Cell-dyn (США).

При изучении влияния препарата «Эпримек» на печень лабораторных животных использовали показатели, характеризующие обезвреживающую и белковообразовательную функции органа. Исследования проводили методом

Квика-Пытеля в модификации Степановой Н.Г. (1962) [19]. Кроме того, в сыворотке крови определяли количество SH-групп [208].

Изучение функционального состояния почек проводили по комплексу методов – измеряли диурез, определяли удельный вес мочи, содержание в моче белка и хлоридов [21, 26, 28].

Иммунный статус организма определяли с помощью турбометрического метода, основанного на реакции осаждения иммуноглобулинов сульфатом цинка [21].

Подопытные и контрольные животные во всех экспериментах по изучению терапевтической эффективности препаратов из различных фармакологических групп содержались в одинаковых условиях и получали одинаковый рацион. В течение трех дней после дачи препаратов было установлено наблюдение за животными.

Расчет эффективности препаратов проводили по типу «контрольный тест». Контрольная группа при этом содержалась в обычных условиях и препараты в ходе эксперимента не получала. Повторные пробы фекалий для копроовоскопии отбирались на 3, 7, 14 и 21 день после дачи препаратов. Остальная методика подробно описана в разделе (2.2.15 Терапия при кишечных паразитозах пушных зверей).

Статистическую обработку данных, полученных в ходе всех экспериментов, проводили методом вариационной статистики с помощью простого сравнения средних по двустороннему t-критерию Стьюдента в модификации Типпета [141]. При статистическом анализе различия определяли (p), который принимался равным 0,05 уровню значимости, при этом значения могли ранжироваться по 3 уровням достигнутых статистически значимых различий:  $p \leq 0,05$ ;  $p \leq 0,01$ ;  $p \leq 0,001$ . Также высчитывался коэффициент вариации, который представляет собой отношение среднеквадратического отклонения к среднему арифметическому [49]. Для расчета коэффициента вариации нами использовалась следующая формула:

$$C_v = \sigma / \check{k},$$

где  $C_v$  – коэффициент вариации;

$\sigma$  – среднеквадратическое отклонение по выборке;

$\check{k}$  – среднеарифметическое значение разброса значений.

Статистический анализ выполняли с помощью программного обеспечения «Student-200», а также с использованием пакетов Statistica, БИОСТАТИСТИКА и с помощью программы Microsoft Excel.

## 2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научных трудах: [22, 69, 70, 71, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 242, 317, 318], которые были уточнены, расширены и содержат новые сведения.

### 2

.

Проведенный анализ литературных данных показал, что паразиты пушных зверей широко распространены в звероводческих хозяйствах практически во всех странах, занимающихся разведением животных Севера. Однако в литературе информация о паразитофауне пушных зверей имеет противоречивый, а иногда неполный обрывочный характер. Среди паразитов эймериидозы и гельминтозы являются самыми распространенными, однако большинство авторов, за редким исключением, описывают либо эймериидозы, либо гельминтозы пушных зверей и крайне мало информации об ассоциированном паразитировании эймериидозно-гельминтозной инвазии. Тем не менее, изучение возбудителей паразитозов пушных зверей имеет важное значение, так как разные виды имеют неодинаковую патогенность, оказывают различное воздействие на организм позвоночных, обладают многообразными иммуногенными свойствами и имеют разную чувствительность к лечебно-профилактическим препаратам.

В связи с этим перед нами стояла задача установить видовой состав возбудителей пушных зверей в хозяйствах Северо-Западного региона РФ и на основании полученных данных предложить научно-обоснованные рекомендации по профилактике и лечению пушных зверей.

Изучение фауны простейших и гельминтов пушных зверей проводили в период с 2009 по 2019 гг., в 6-ти зверохозяйствах Ленинградской и Калининградской областях.

Данные регионы расположены на Северо-Западе европейской части Российской Федерации и климатические условия в данной округе отличаются по областям. Климат Ленинградской области отличается сравнительно теплой зимой и прохладным летом. Здесь выпадает небольшое количество осадков, но из-за малого испарения они способствуют заболачиванию территории региона. В северных районах области отличается суровой зимой и сравнительно коротким теплым летом. Более умеренным климатом характеризуется Калининградская область. Безусловно, факторы внешней среды являются определяющими при сохранении инвазионных стадий, что сказывается на фауне и биоразнообразии паразитов, обитающих на исследуемой территории у пушных зверей.

## 2

.

Исследования проводили в разные периоды с 2009 по 2019 гг. в трех зверохозяйствах Ленинградской области, при обследовании норок (*Neovison vison*) были выявлены один вид изоспор – *I. laidlawi* и два вида эймерий – *E. vison*, *E. furonis*.

**Видовой состав возбудителей эймериоза и изоспороза**  
Из обследованных в Ленинградской области 5557 норок зараженными оказались 2404, экстенсивность инвазии (ЭИ) составила 43,26%.

Среди всех видов эймериид, встречающихся в Ленинградской области, преобладающим у норок является *I. laidlawi*: он был обнаружен у 1255 животных, что составило 22,58% (Таблица 2.2.1.1.1).

При этом стоит отметить, что данный вид был зарегистрирован у молодняка текущего года рождения, с возрастом ЭИ данным видом падала, на втором месте по встречаемости был вид *E. vison* у 783 норок (14,09%) и болели взрослые животные, у которых со временем ЭИ *I. laidlawi* снижалась.

Таблица 2.2.1.1.1 – Экстенсивность инвазии норок простейшими в зверохозяйствах Ленинградской области

Виды эймерий и изоспор	Кол-во обследованных	Зараженные	ЭИ, %
<i>E. vison</i>	5557	783	14,09
<i>E. furonis</i>	5557	44	0,79
<b>Итого эймерий</b>	5557	827	14,88
<i>I. laidlawi</i>	5557	1255	22,58
<b>Итого изоспор</b>	5557	1255	22,58
<b>Итого моноинвазий:</b>	5557	2082	37,47
<i>E. vison</i> + <i>E. furonis</i>	5557	31	0,56
<i>E. vison</i> + <i>I. laidlawi</i>	5557	254	4,57
<i>E. furonis</i> + <i>I. laidlawi</i>	5557	24	0,43
<b>Микстинвазия двумя паразитами:</b>	5557	309	5,56
<i>E. vison</i> + <i>E. furonis</i> + <i>I. laidlawi</i>	5557	13	0,23
<b>Микстинвазия тремя паразитами:</b>	5557	13	0,23
<b>ИТОГО:</b>	5557	2404	43,26

И значительно реже в данном регионе у молодняка и взрослых встречался вид *E. furonis* – у 44 животных (0,79%). Помимо моноинвазий, эймерии и изоспоры образовывали ассоциации между собой. Так, микстинвазия *E. vison* и *I. laidlawi* была обнаружена у молодняка 254 животных (4,57%), а ассоциации *E. vison* + *E. furonis* и *E. furonis* + *I. laidlawi* – у 31 норки (0,56%) и 24 (0,43%), соответственно. Микстинвазия одновременно тремя паразитами встречалось достаточно редко – у 13 из 5557 обследованных животных, что составляет всего 0,23%.

Таким образом, чаще эймериидозы в Ленинградской области протекают в виде моноинвазии – на их долю приходится 86,6% от числа зараженных животных. Микстинвазии с одновременным паразитированием двух видов простейших – в 12,85%, а микстинвазия с участием трех паразитов – лишь в 0,55% (Рисунок 2.2.1.1.1).

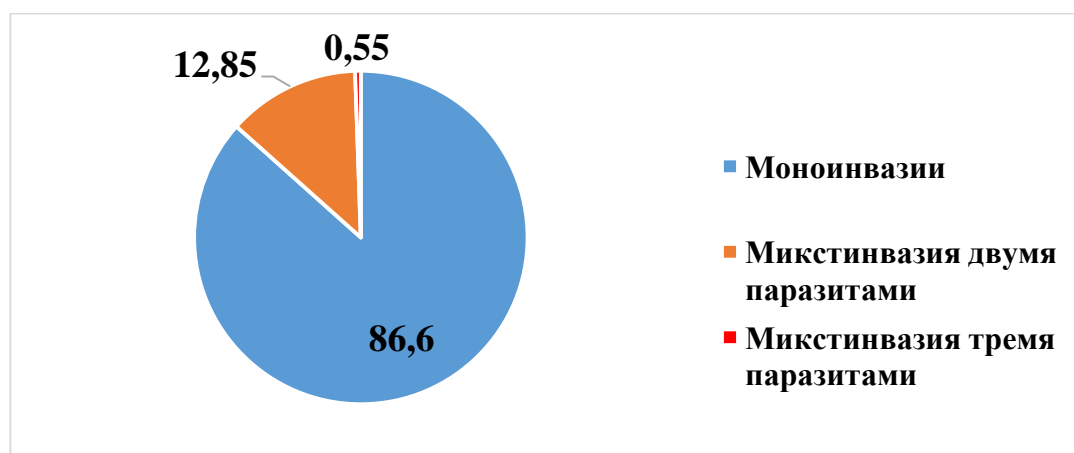


Рисунок 2.2.1.1.1 – Соотношение моно- и микстинвазии эймериидозов у норок в зверохозяйствах Ленинградской области

Из числа больных животных, наиболее распространенным эндопаразитом у норок в зверохозяйствах Ленинградской области, является *I. laidlawi*, обнаруженная у 52,2% (Рисунок 2.2.1.1.2). На втором месте по степени распространенности находится *E. vison* – 32,57%, ассоциация этих двух простейших на третьем месте – 10,9%, остальные виды паразитов и их ассоциации встречаются гораздо реже – от 1,83 до 0,54%.

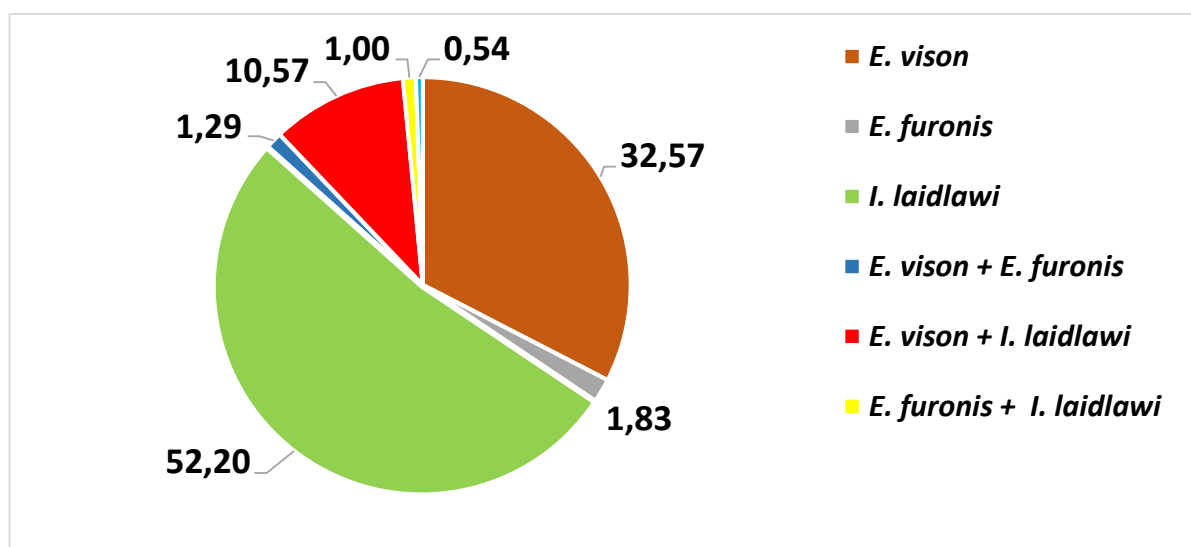


Рисунок 2.2.1.1.2 – Паразитофауна норок в зверохозяйствах Ленинградской области

Исследования показали, что виды *E. vison* и *I. laidlawi* паразитируют у животных во всех обследованных нами хозяйствах в Ленинградской области, а вид *E. furonis* лишь в одном.

### **2.2.1.2 Видовой состав возбудителей эймериоза и изоспороза норок в Калининградской области**

Анализ литературных данных показал, что распространение эймериидозов пушных зверей в Калининградской области изучено недостаточно.

В связи с тем, что паразитофауна норок в Калининградской области ранее не изучалась, нами были проведены копроовоскопические исследования с целью определения видового состава, изучения распространения, сезонной и возрастной динамики эймериоза и изоспороза в 3-х зверохозяйствах данной области.

В зверохозяйстве №1, расположенном в Багратионовском районе Калининградской области, инвазия эймериидозами установлена у 153 норок из 273 обследованных (ЭИ 56%). У норок были обнаружены два вида эймерий – *E. furonis* и *E. vison* и два вида изоспор – *I. laidlawi*, *I. evermanni*.

Преобладающим видом эймерий, вызывающих моноинвазию, является *E. vison*, обнаруженный у 37 норок. При этом ЭИ среди зараженных животных данным видом составила 24,2%. На втором месте по встречаемости среди моноинвазий была изоспора – *I. laidlawi* (17,6%).

Реже встречаются моноинвазии такими видами, как *E. furonis* (2,6%) и *I. evermanni* (2%), причем последний вид был впервые выявлен у норок в Калининградской области. По литературным данным вид *I. evermanni* был впервые обнаружен и описан у степного хорька в Казахстане С.К. Сванбаевым в 1956 году [188]. Позднее В.А. Герасимчик (2008) обнаружил данный вид у норок в Республике Беларусь [37]. Распространение вида *I. evermanni* в Северо-Западном регионе не изучалось.



Данные по ЭИ норок кокцидиями разных видов, а также их ассоциациями представлены в таблице 2.2.1.2.1.

Таблица 2.2.1.2.1 – Экстенсивность инвазии норок простейшими в зверохозяйстве №1

<b>Виды эймерий и изоспор</b>	<b>Кол-во обследованных</b>	<b>Зараженные</b>	<b>ЭИ, %</b>
<i>E. vison</i>	273	37	13,55
<i>E. furonis</i>	273	4	1,47
<i>I. laidlawi</i>	273	27	9,89
<i>I. evermanni</i>	273	3	1,10
<b>Итого моноинвазий:</b>	273	71	26,01
<i>E. vison</i> + <i>E. furonis</i>	273	3	1,10
<i>E. vison</i> + <i>I. laidlawi</i>	273	33	12,09
<i>E. vison</i> + <i>I. evermanni</i>	273	2	1,10
<i>E. furonis</i> + <i>I. laidlawi</i>	273	10	3,66
<i>E. furonis</i> + <i>I. evermanni</i>	273	1	0,37
<i>I. laidlawi</i> + <i>I. evermanni</i>	273	11	4,03
<b>Микстинвазия двух паразитов:</b>	273	60	21,98
<i>E. vison</i> + <i>I. laidlawi</i> + <i>I. evermanni</i>	273	4	1,47
<i>E. vison</i> + <i>E. furonis</i> + <i>I. laidlawi</i>	273	18	6,59
<b>Микстинвазия трех паразитов:</b>	273	22	8,06
<b>ИТОГО:</b>	<b>273</b>	<b>153</b>	<b>56,04</b>

Микстинвазия двумя паразитами одновременно встречалась у 39% зараженных животных (Рисунок 2.2.1.2.1) и представлена ассоциациями различных видов простейших.

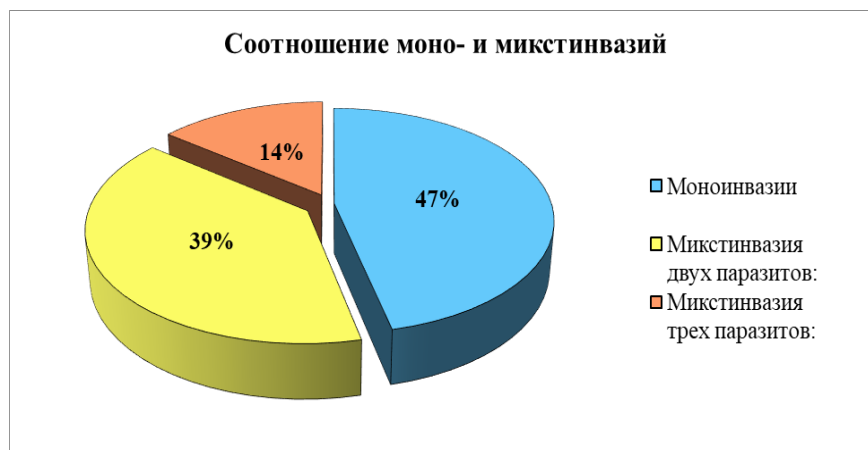


Рисунок 2.2.1.2.1 – Соотношение моно- и микстинвазии эймериидозов у норок в зверохозяйствах Калининградской области

Так, микстинвазия *E. vison* + *I. laidlawi* встречалась у 33 животных, что составило 21,6%. Остальные ассоциации паразитов варьировались от 0,7% (*E. furonis* + *I. evermanni*) до 7,2% (*I. laidlawi* + *I. evermanni*).

Микстинвазия тремя паразитами зарегистрирована у 14% из числа зараженных норок. Чаще других у 18 животных (11,8%) наблюдалась ассоциация *E. vison* + *E. furonis* + *I. laidlawi*. У 2,6% зараженных норок установлено одновременное паразитирование *E. vison* + *I. laidlawi* + *I. evermanni*.

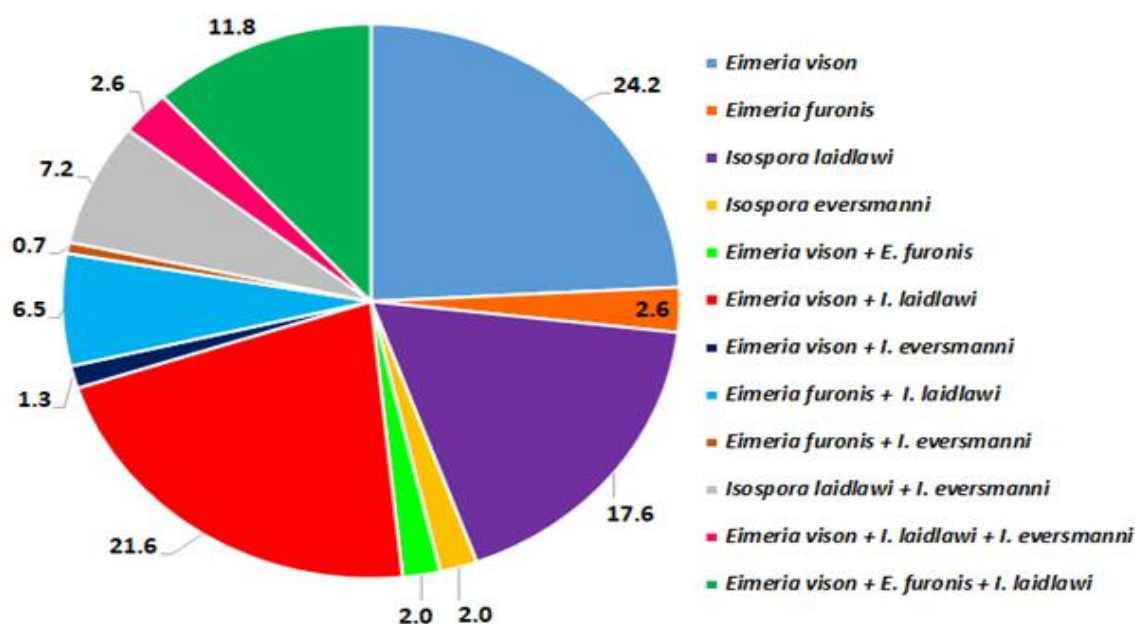


Рисунок 2.2.1.2.2 – Паразитофауна у норок в зверохозяйстве №1

Из 42 обследованных самок инвазия эймериидозами была установлена у 23 (ЭИ – 54,76%). Из 33-х обследованных самцов 13 были заражены простейшими, что составило 39,39%. Установлено, что у самцов, как и у самок, преобладающим видом эймериид является *E. vison*, и в меньшей степени – *I. laidlawi*. Микстинвазия у взрослого поголовья норок встречалась реже, чем у молодняка.

Молодняк текущего года рождения оказался наиболее инвазирован эймеридами, при этом ЭИ составила 76,5%.

В зверохозяйстве №2 Гурьевского района Калининградской области из 160 обследованных норок зараженными оказалось 84, что составило 52,5%. Данные по ЭИ представлены в таблице 2.2.1.2.2.

Таблица 2.2.1.2.2 – Экстенсивность инвазии норок кокцидиями в зверохозяйстве №2

Виды эймерий и изоспор	Кол-во обследованных	Зараженные	ЭИ, %
<i>E. vison</i>	160	45	28,13
<i>I. laidlawi</i>	160	33	20,63
<b>Итого моноинвазий:</b>	160	<b>78</b>	<b>48,75</b>
<i>E. vison</i> + <i>I. laidlawi</i>	160	6	3,75
<b>Микстинвазия двух паразитов:</b>	160	<b>6</b>	3,75
<b>ИТОГО:</b>	160	<b>84</b>	<b>52,50</b>

Среди видов кокцидий, обнаруженных у обследованных норок, были выявлены – *E. vison* и *I. laidlawi*, ЭИ которыми составила 28,13% и 20,63% соответственно. Эймериидозы в этом хозяйстве представлены преимущественно в виде моноинвазии, которая составила 48,75% из числа обследованных норок. Микстинвазия, образованная ассоциацией двух видов кокцидий, была обнаружена у 3,75% животных.

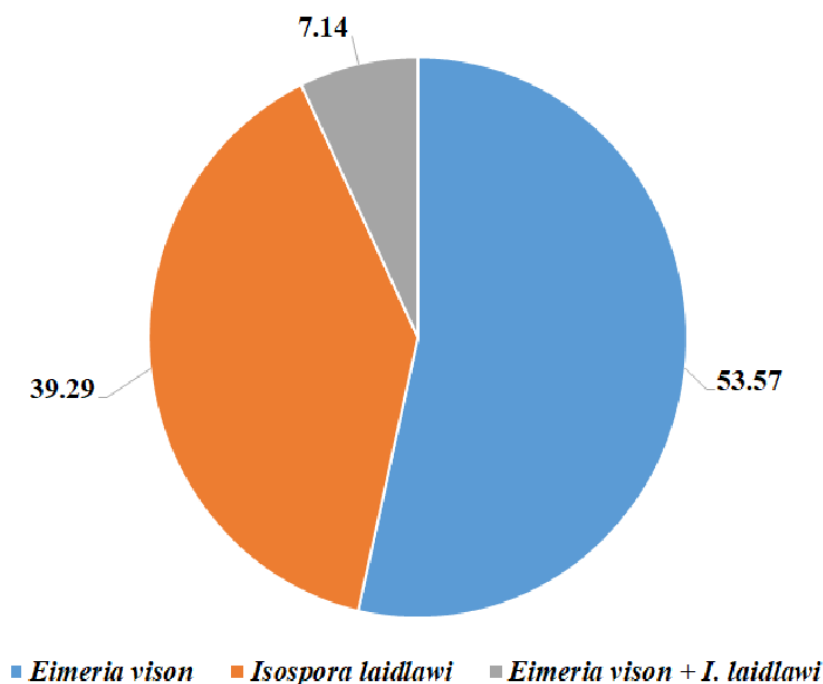


Рисунок 2.2.1.2.3 – Видовой состав эймериид в зверохозяйстве №2

Процентное соотношение видов кокцидий в данном хозяйстве среди зараженных составила *E. vison* – 53,57%, *I. laidlawi* – 39,29%, ассоциация этими видами составляет 7,14% от числа зараженных.

В зверохозяйстве №2 была установлена ЭИ у самок 51,85%, самцов – 44,7%, молодняка текущего года рождения – 57,35%.

В зверохозяйстве №3, находящемся в Зеленоградском районе Калининградской области, ЭИ кокцидиями норок составила 36%. В данном хозяйстве кокцидиозы протекают преимущественно в виде моноинвазий. Преобладающим видом изоспор был *I. laidlawi*, обнаруженный у 41-го животного, что составило 32%. Паразитирование вида *E. vison* отмечено у 3,13% норок. Ассоциация простейших представлена также этими двумя видами. Микстинвазия установлена у одного животного, что составило 0,78% от общего числа обследованных животных (Таблица 2.2.1.2.3).

Таблица 2.2.1.2.3 – Экстенсивность инвазии норок простейшими в зверохозяйстве №3

Виды эймерий и изоспор	Кол-во обследованных	Зараженные	ЭИ, %
<i>E. vison</i>	128	4	3,13
<i>I. laidlawi</i>	128	41	32,03
<b>Итого моноинвазий:</b>	<b>128</b>	<b>45</b>	<b>35,16</b>
<i>E. vison</i> + <i>I. laidlawi</i>	128	1	0,78
<b>Микстинвазия двух паразитов:</b>	128	1	0,78
<b>ИТОГО:</b>	<b>128</b>	<b>46</b>	<b>35,94</b>

Видовой состав кокцидий у норок в звероводческом хозяйстве №3 представлен на рисунке 2.2.1.2.4.

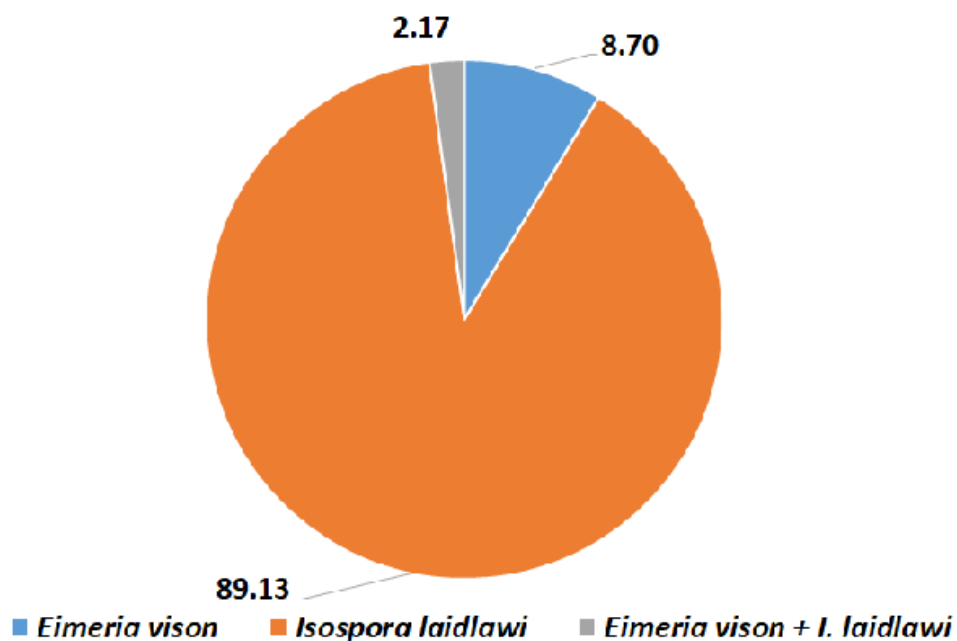


Рисунок 2.2.1.2.4 – Видовой состав эймериид в зверохозяйстве №3

В данном зверохозяйстве преобладающим среди зараженных норок оказался вид *I. laidlawi* (89,13%), реже был обнаружен вид *E. vison* (8,7%) и редко встречалась ассоциация этих паразитов – 2,17% от числа зараженных животных.

Проводя анализ данных, следует отметить, что из 128 обследованных норок, бóльшая часть животных (82 норки) не инвазированы простейшими. Из 56 взрослых самок только 6 животных оказались заражены, ЭИ составила 10,71%, и у них был обнаружен только один вид – *I. laidlawi*. Из 44-х обследованных самцов 27 были заражены простейшими, что составило 61,36%. Установлено, что у самцов, как и у самок, преобладающим видом был *I. laidlawi*, и в меньшей степени они были инвазированы *E. vison*. Микстинвазия у взрослого поголовья норок не встречалась.

Молодняк текущего года рождения оказался сильнее инвазирован кокцидиями, при этом ЭИ составила 46,42%. У молодняка наиболее распространен вид *I. laidlawi*, реже встречается *E. vison*. Данная видовая принадлежность является общей и для молодняка, и для взрослых самцов. Микстинвазия у молодняка диагностирована только у одного животного и представлена ассоциацией *E. vison* + *I. laidlawi*.

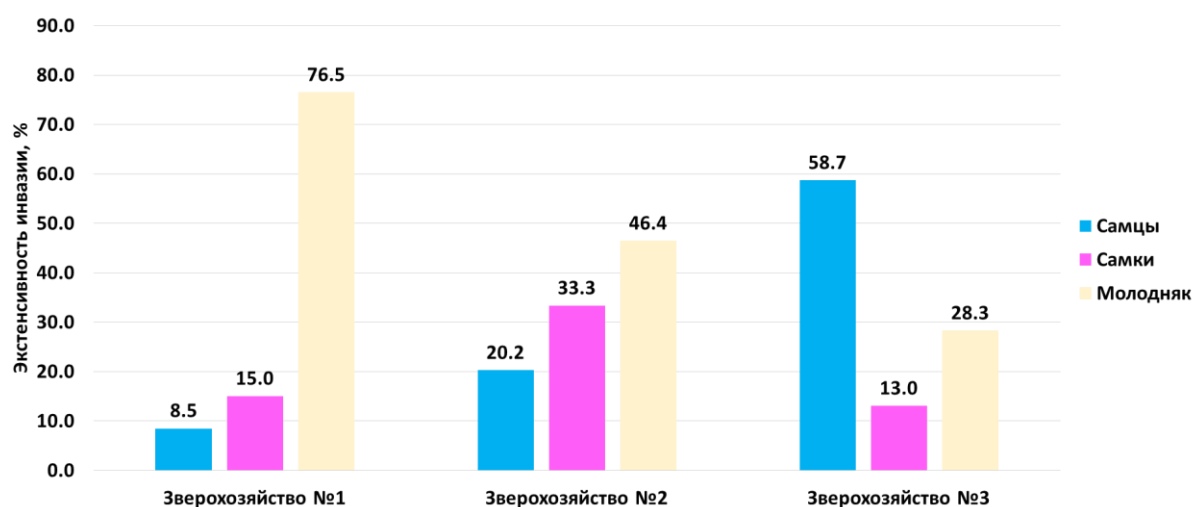


Рисунок 2.2.1.2.5 – Экстенсивность эймериидозами у норок различного пола и возраста в зверохозяйствах Калининградской области, %

Во всех трех обследованных зверохозяйствах ЭИ у молодняка была на высоком уровне. В зверохозяйстве №1 и №2 она была выше, чем у остальных групп животных и составляла 76,5 и 46,4%, соответственно. В зверохозяйстве №3 этот показатель составлял 28,3% и был значительно ниже, чем у взрослых

самцов, у которых ЭИ составляла 58,7%. Возможно неудовлетворительное санитарное состояние шедов, в которых содержатся самцы, стало причиной широкого распространения инвазии. Во всех хозяйствах отмечено преимущественное заражение эймериидозами самок в сравнении с самцами (Рисунок 2.2.1.2.5).

ИИ у животных во всех трех хозяйствах была низкой. У самок ИИ варьировалась в пределах 1-50, у самцов 1-80, а у молодняка 1-180 ооцист, соответственно.

**Выводы.** Во всех обследованных хозяйствах в Калининградской области у норок были обнаружены простейшие из семейства Eimeriidae. Наибольшая ЭИ (56%) и самое широкое разнообразие видов кокцидий обнаружено в звероводческом хозяйстве №1 – *E. vison*, *E. furonis*, и два вида изоспор – *I. laidlawi*, *I. evermanni*. У 47% обследованных животных установлена моноинвазия. Микстинвазия, вызванная ассоциацией двух паразитов, составила 39%, трех – 14% от числа зараженных, соответственно. Следует отметить, что впервые у норок в Калининградской области выявлена *I. evermanni*.

В меньшей степени инвазированы норки в хозяйстве №2 (52,5%). Среди видов кокцидий, обнаруженных у обследованных норок, были выявлены – *E. vison* и *I. laidlawi*, ЭИ которыми составила 28,13% и 20, 63%, соответственно. Эймериидозы в этом хозяйстве представлены преимущественно в виде моноинвазии, которая составила 48,75%. Микстинвазия, образованная ассоциацией двух видов кокцидий была обнаружена у 3,75% норок.

В звероводческом хозяйстве №3 установлена наименьшая ЭИ – 35,94%. Во всех хозяйствах эймериидозы протекают как в виде моно-, так и микстинвазии. Преобладающими являются два вида эймерий – *E. vison*, *E. furonis*, и два вида изоспор – *I. laidlawi*, *I. evermanni*. Преобладающим видом изоспор был *I. laidlawi*, обнаруженный у 41-го животного, что составило 32%. Паразитирование вида *E. vison* отмечено у 3,13% норок. Ассоциация

простейших представлена также этими двумя видами – *E. vison* и *I. laidlawi*. Микстинвазия выявлена у одного животного, что составило 0,78% от общего числа обследованных животных.

Во всех зверохозяйствах Калининградской области эймериидозы чаще протекают в форме моноинвазии. Так процентное соотношение моно- и микстинвазий распределилась следующим образом: моноинвазия – 68,55%, микстинвазия двумя паразитами – 23,67%, микстинвазия тремя паразитами 7,77%.

Молодняк норок в хозяйствах Калининградской области более подвержен эймериидозам, чем взрослые животные. У животных текущего года рождения встречается *E. vison* (18,36%), *I. laidlawi* (16,32%), *E. vison*+ *I. laidlawi* (11,9%).

### **2.2.1.3 Морфологическая и биологическая характеристики эймериоза и изоспороза норок**

#### ***Isospora laidlawi* Hoare, (1927)**

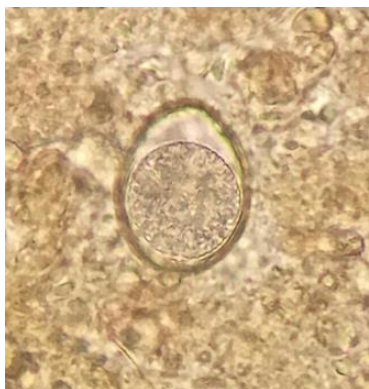
Данный вид изоспор был выявлен у 1356 (22,16%) инвазированных норок в 6-ти зверохозяйствах располагающихся в Северо-Западном регионе РФ.

Экзогенные стадии *I. laidlawi* были яйцевидной или овальной формы, с четко выраженной двухконтурной оболочкой, наружная тонкая и бесцветная, а внутренняя толстая желтоватого оттенка, микропиле и полярная гранула отсутствовали. Размер ооцист – длина (Д): 30,36-36,15 × ширина (Ш): 23,9-26,5 мкм (в среднем 33,25× 25,2). Средний индекс формы составляет – 1,31.

Неспорулированные ооцисты содержали сферическую зиготу или остаточное тело, диаметром 23,6 мкм, светло-серого цвета с голубоватым оттенком (Рисунок 2.2.1.3.1). Остаточное тело имеет зернистый характер. Споруляция длится примерно двое суток, максимально – 60 ч. В зрелых ооцистах образуется по две короткоовальные эллиптические спороцисты, которые содержали остаточное тело размером 20,8 × 14,4 мкм.



Спорулированная спороциста содержит внутри по четыре спорозоида размером  $13,8 \times 14,6$  мкм вытянутой формы со слегка заостренным одним концом. В центре спорозоитов различимо ядро с прозрачной вакуолью.



а – неспорулированная  $\times 1480$



б – спорулированная  $\times 1340$

Рисунок 2.2.1.3.1 – Ооциста *I. laidlawi* (оригинал)

Данный вид, является высоко патогенным, особенно для молодняка норок локализуются на всем протяжении тонкого кишечника.

#### *Eimeria vison* Kingscote, (1934)

Синонимы: *E. mustelae* Kingscote, 1934; *non E. mustelae* Iwanoff-Gobzem, 1934.

Вид *Eimeria vison* установлен во всех 6 обследованных зверохозяйствах у 869 (14,20%) из 6118 обследованных норок. Ооцисты вытянутой эллипсоидной формы, с двухконтурной оболочкой: тонкой бесцветной наружной и толстой желтоватого цвета внутренней (Рисунок 2.2.1.3.2).



а – неспорулированная  $\times 1440$



б – спорулированная  $\times 1440$

Рисунок 2.2.1.3.2 – Ооциста *E. vison* (оригинал)

Размеры ооцист величиной (Д):  $16,3-27,7 \times$  (Ш):  $11,6-18,54$  мкм (в среднем  $22,0 \times 15,07$ ). Индекс формы – 1,46. Микропиле отсутствует. Зигота

мелкозернистая, шаровидно-вытянутой формы, собрана в центре. На одном из полюсов между стенкой и зародышевой массой имелась полярная гранула (шапочка).

Продолжительность спорогонии в среднем составляет – 66 часов: максимально – 72 ч., минимально – 60 ч. Четыре овальные спороцисты, размером  $9,0 \times 5,6$  мкм, каждая из которых содержит по два спорозоида запятовидной формы, размером  $5,6 \times 2,6$  мкм.

Данный вид поражает тонкий кишечник по всей его длине: двенадцатиперстную, тощую и подвздошную кишку. По литературным и нашим данным, относится к высоко патогенному виду.

#### *Eimeria furonis* Hoare, (1927)

Данный вид обнаружен у 48 (0,78%) зараженных норок в 2-х из 6 обследованных нами зверохозяйствах. Ооцисты этого вида очень мелкие, сферической или овальной формы, с тонким бесцветным наружным слоем и толстым желтоватым внутренним слоем (Рисунок 2.2.1.3.3). Микропиле отсутствовало. Экзогенные стадии имели следующие размеры – (Д): 11,36-13,4 × (Ш): 10,5-12,64 мкм (в среднем  $12,38 \times 11,62$ ). Средний индекс формы составляет – 1,06.

Зародышевая масса мелкозернистая, сконцентрирована в шар. Спорогония длится около 122 часов: максимальная продолжительность – 146 ч., минимальная – 98 ч. В процессе споруляции в ооцистах образовывались четыре спороцисты овальной формы с заостренным концом на одном из полюсов. Размер спороцист составлял –  $5,4 \times 4,1$  мкм, каждая из которых содержала по два червеобразных спорозоида и остаточное тельце в виде мелких зерен. Спорозоида на одном из концов были уже, чем на другом, и имели центральное ядро, а прозрачная вакуоль находилась в более широкой части.

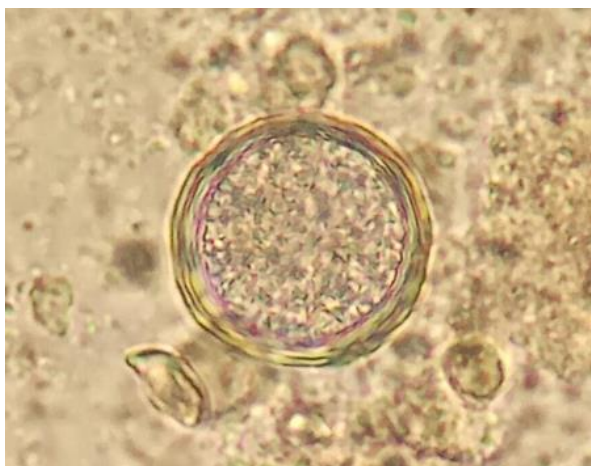


Рисунок 2.2.1.3.3– Неспорулированная ооциста *Eimeria furonis* × 3140  
(оригинал)

Данный вид, является слабо патогенным, согласно литературным данным, в основном им болеет молодняк.

***Isospora evermanni* Svanbaev, (1956)**

Данный вид был впервые обнаружен нами у норок в одном из звероводческих хозяйств Калининградской области, ранее по литературным данным информации о паразитировании *I. evermanni* в данном регионе не было. Этот вид установлен у 3 (0,05%) инвазированных норок. Ооцисты данных изоспор правильной сферической формы, с гладкой двухконтурной оболочкой. Наружный слой тонкий и бесцветный, внутренний – толстый с желтоватым оттенком, без микропиле или остаточного тела. Экзогенные стадии имели следующие размеры – (Д): 15,36-21,06 × (Ш): 12,8-19,84 мкм (в среднем 18,21×16,32). Средний индекс формы составлял – 1,11. Зародышевая масса мелкозернистая, светло-серого цвета, полностью заполняет неспорулированную ооцисту (Рисунок 2.2.1.3.4).



а – неспорулированная ×1890



б – спорулированная ×2680

Рисунок 2.2.1.3.4 – Ооциста *Isospora evermanni* (оригинал)

Продолжительность спорогонии составляет от 52 до 72 часов, в среднем составляет 62 ч. В зрелых ооцистах содержится по две вытянутые спороцисты размером  $11,4 \times 8,6$  мкм. В ооцистах имеется остаточное тело в виде овального образования. Данная изоспора локализуется в тонком кишечнике. Является слабопатогенным видом.

Таким образом, по результатам проведенных нами исследований можно сделать следующие выводы:

- Во всех 6 обследованных нами зверохозяйствах были зарегистрированы эймериидозы; из 6118 обследованных в них норок зараженными оказались 2687, ЭИ составила 43,92%;
- в звероводческих хозяйствах Северо-Западного региона у норок, разводимых в условиях неволи, установлено четыре вида эймериидозов, два вида эймерий – *E. vison* и *E. furonis* и два – изоспор – *I. laidlawi* и *I. evermanni*, последний из которых зарегистрирован нами в Калининградской области впервые;
- самым распространенным видом эймериид у обследованных нами норок является *I. laidlawi*, обнаруженный во всех обследованных нами 6 зверохозяйствах;
- эймериидозы норок в Северо-Западном регионе наиболее часто

протекают в виде моноинвазий – 84,7% (2276) из числа инвазированных, у 13,99% (376) наблюдалась микстинвазия двумя паразитами и у 1,30% (35 животных) была зарегистрирована полиинвазия тремя паразитами одновременно;

- максимальное количество одновременно паразитирующих у одного животного видов простейших (ассоциаций) – три: *E. vison* + *I. laidlawi* + *I. evermanni* у 0,15% (4 норки); *E. vison* + *E. furonis* + *I. laidlawi* – 1,15% (31 животное);
- видовой состав эймерий и изоспор не зависит от пола и типовой окраски норок. Некоторые различия в видовом составе кишечных простейших наблюдались у норок разного возраста;
- из отмеченных видов наиболее патогенными являются самые широко распространенные виды – *E. vison* и *I. laidlawi*, вызывающие при заражении падеж у молодняка норок.

#### **2.2.1.4 Уточнение видового состава эймериид норок методом молекулярно-генетического исследования гена 18S рДНК**

Результаты текущего этапа исследования частично опубликованы в статье «Особенности диагностики и патоморфологии эймериидозов норок в зверохозяйствах Северо-Западного региона Российской Федерации» [100].

Изучение морфологии эймериид, обнаруженных в зверохозяйствах, подробно описано выше в разделе 2.2.1.3 (морфологическая и биологическая характеристики эймериоза и изоспороза норок). При определении принадлежности выделенных ооцист к тому или иному виду и после проведения световой микроскопии исследователи обычно пользуются различными определителями и монографиями. Но не всегда определение ооцист эймериид с помощью световой микроскопии дает возможность со 100% точностью определить морфометрическим способом схожие виды кокцидий. Так, обнаруженные нами ооцисты *E. vison* Kingscote, 1934 имеют морфологическое сходство с другим видом эймерий *E. ichdea* Hoare, 1927.

У первого вида *E. vison* по результатам проведенной нами морфометрии размеры ооцист имеют следующую величину (Д):16,3-27,7 × (Ш): 11,6-18,54 мкм (в среднем 22,0 × 15,07). Индекс формы – 1,46. Микропиле отсутствует. Зигота мелкозернистая, шаровидно-вытянутой формы, собрана в центре. На одном из полюсов между стенкой и зародышевой массой имелась полярная гранула (шапочка). Схожие данные приведены в работе Герасимчик В.А. (2008), в которой автор указывает на то, что «у данного вида *E. vison* максимальная величина ооцист варьировалась в пределах – 27,72 × 15,86 мкм; минимальная – 17,71 × 11,17; Индекс формы находился в пределах – 1,18-2,01 (1,59). Оболочка ооцист двухслойная, гладкая. Микропиле отсутствует. Зародышевая масса мелкозернистая, шаровидной формы, собрана в центре. На одном из полюсов между стенкой и зародышевой массой имеется полярная гранула (шапочка)» [37]. Таким образом, несмотря на небольшой разброс в измерениях, разные авторы идентифицировали обнаруженные ими виды как *E. vison*.



Рисунок 2.2.1.4.1 – *Eimeria* sp. (оригинал)

По данным Pastor A.R. (2017) ооцисты, идентифицированные как вид *E. ichdea*, по морфометрическим параметрам были следующими: длина – 23,98 мкм (18,59-30,57), ширина – 18,55 мкм (13,73-23,83) и индекс формы – 1,01-1,60 (1,30). Ооцисты были эллиптическими с бесцветной двойной оболочкой и содержали четыре спороцисты, каждая с двумя спорозоитами. Спороцисты



были яйцевидными, в них присутствовали как штидовские тельца, так и остаточное тело [345]. При этом Pastor A.R. указывает на достаточно большой разброс и вариабельность в измерениях, обнаруженных ооцист у черноногих хорьков (*M. nigripes*) (Рисунок 2.2.1.4.2).

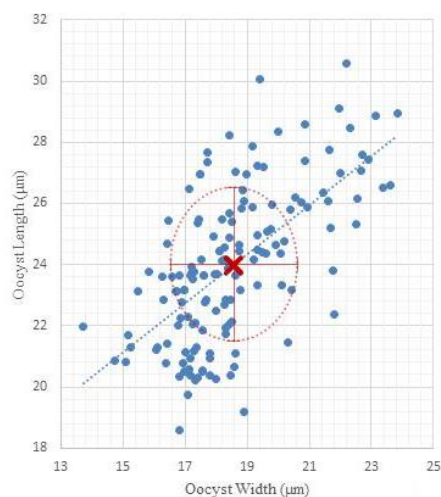


Рисунок 2.2.1.4.2 – Измерение формы, длины и ширины спорулированных ооцист *E. ictidea* у черноногих хорьков (*Mustela nigripes*) [345]

Легенда: × обозначает среднее. Пунктирный овал указывает одно стандартное отклонение от среднего значения

Таким образом, мы имеем два морфологически очень схожих вида, имеющие сравнительно одинаковую форму, размер и отличающиеся лишь наличием или отсутствием полярной гранулы, обнаружить которую при световой микроскопии иногда достаточно сложно.

В отсутствие молекулярных инструментов точное определение размера, формы и определения индекса формы ооцист может быть полезным для дифференциации обнаруженных ооцист между родами *Eimeria* и *Isospora*; однако, это можно сделать только на спорулированных ооцистах. В остальных случаях, когда необходимо установить ооцисты эймериид, не определенные до вида, необходимо применять молекулярно-генетические исследования.

В связи с этим ряд авторов [274, 280, 341, 345] указывают, что данные полученные при проведении световой микроскопии с целью определения видов кокцидий в множестве случаев не соответствовали результатам

полученными молекулярными методами. Кроме того, повторная оценка этих образцов авторами показала, что многие из них, которые были идентифицированы неправильно на основе морфометрии, содержали в основном неспорлированные ооцисты, что делает точную идентификацию на основе микроскопического внешнего вида чрезвычайно сложной задачей. Эти результаты еще раз подчеркивают важность молекулярных методов для точной идентификации паразитов [345].

С целью определения видового состава эймериид спонтанно зараженных норок в лабораторию ЦКП “Геномика” СО РАН (ИХБФМ СО РАН) было направлено 8 проб (две из них – пробы фекальных масс, остальные – кусочки кишечника больных эймериидозами) для проведения молекулярно-генетического анализа 18S рДНК. Диагнозы на эймериоз и изоспороз были установлены с помощью световой копроовоскопии флотационными методами. Тотальную ДНК выделяли в соответствии с инструкцией производителя (набор DNeasy PowerSoil Kit, Qiagen). Для механического разрушения образцов использовали TissueLyser II (Qiagen) 10 мин при 30 Герц. Генотипирование каждого образца проводили по двум локусам – ядерной 18S рДНК (SSUrDNA) и субъединицы I митохондриальной цитохромоксидазы (mt COI). Области из nu 18SSUrDNA и митохондриальной ДНК субъединицы I цитохромоксидазы (mt COI) амплифицировали с помощью ПЦР используя следующие праймеры (Таблица 2.2.1.4.1).

Таблица 2.2.1.4.1 – Праймеры для амплификации ядерных 18S рДНК и митохондриальных локусов COI, используемые при идентификации эймериид норок (*Neovison vison*)

Локус гена	Название праймера	Последовательность праймеров(5'-3')	Ссылка на автора
18S рРНК	V4F	CCAGCASCYGC GGTAATTCC	Balzano S, et al. (2015)
	V4RB	ACTTTCGTTCTTGATYRR	
mt COI	COI_10F	GGWDSWGGWRYWGGWTGGAC	Ogedengbe et al. (2011)
	COI_500R	CATRTGRTGDGCCCAWAC	

ПЦР-амплификацию в реальном времени проводили для всех образцов на Veriti® Thermal Cycler («Life Technologies, Inc.», США) в объеме 25 мкл,



содержащих ~ 100 нг геномной ДНК, 1½ ПЦР-буфер, 1,5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 0,2 мМ дезоксирибонуклеотидтрифосфаты (dNTP), 400 нМ каждого праймера и 1 ед. полимеразы TaqDNA Invitrogen Platinum («Thermo Fisher Scientific», США).

Качество ДНК оценивали с помощью электрофореза в 2%-ном агарозном геле, а количество – на Qubit (Life Technologies) и на Nanodrop (Thermo Fisher Scientific). Получение библиотек 18S, приведены на рисунке 2.2.1.4.3.

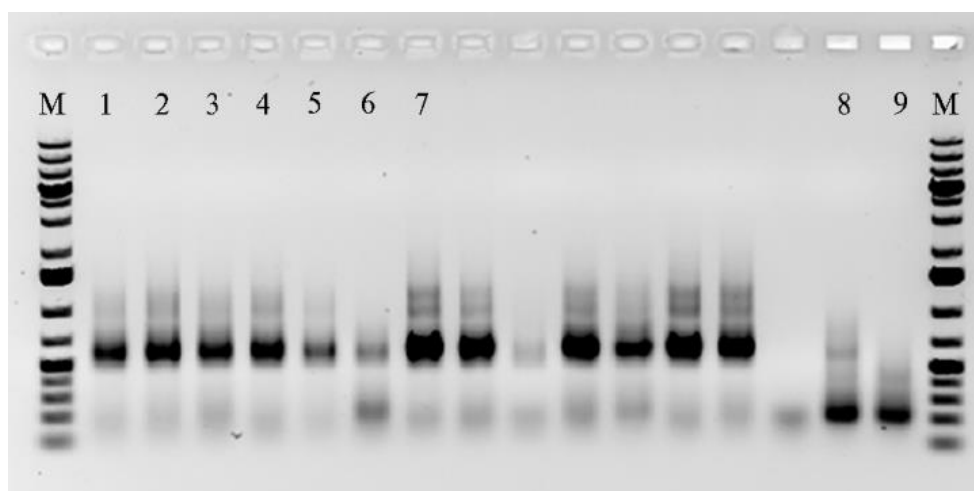


Рисунок 2.2.1.4.3 – Пример электрофоретического анализа 18S рДНК-

библиотек при генотипировании эймериид, выделенных у норок в звероводческих хозяйствах Калининградской области в 2018 году (оригинал)

Анализируемые образцы с разным количеством ДНК: 1-3 – Nor1 (1, 2, 3 мкл), 4, 5 – Nor5 (1, 0,5 мкл), 6, 7 – Nor5PC (1, 0,5 мкл); 8, 9: Ctrl\_NegControl (в дублях);

М – маркер молекулярных масс (GeneRuler 1 kb Plus DNA Ladder, «Thermo Fisher», США)

(2 % агарозный гель)

Молекулярная характеристика образцов фекальных масс была успешно выполнена у 7 из 10 образцов. Попытки амплификации ДНК, выделенной из образцов ооцист прошедших консервацию, были безуспешными.

При молекулярном анализе нуклеотидной последовательности гена рибонуклеиновой кислоты малой рибосомальной субъединицы была установлена видовая принадлежность выделенных возбудителей эймериидозов. Глубокое секвенирование региона V4 гена 18S рДНК и

биоинформатический анализ позволили определить ОТЕ (операционные таксономические единицы) и установить их принадлежность. Преобладающими видами простейших, паразитирующих у норок, были *E. vison*, *E. furonis*, *I. laidlawi* и *I. evermanni*. Последовательность фрагмента 18S рДНК длиной 383 п.н., выделенная в одной из проб ооцист, определенных световой микроскопией как *E. vison*, имела наибольшее (99,48 %) сходство с последовательностями *E. ictidea*. Последний вид ранее не обнаруживался нами при копроовоскопии и под световым микроскопом ни в одном из обследованных зверохозяйств. Этот результат свидетельствует о том, что требуются более подробные молекулярно-генетические исследования эймериид с использованием более длинной цепочки последовательностей нуклеотидов. Помимо этого, высокое морфологическое и генетическое сходство *E. vison* и *E. ictidea* ставит вопрос о возможной необходимости синонимизации этих двух видов.

Однако проведенный филогенетический анализ и построение комбинированного древа, основанного на сравнение последовательности фрагмента 18S рДНК длиной 383 п.н., выделенного из образца OTU 213, указывает, что это все же скорее всего самостоятельный вид эймерий – *E. ictidea*, т.к. он, согласно данному анализу нуклеотидные последовательности из нашего образца, но отличается от нуклеотидных последовательностей *E. vison*, опубликованных в GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) (Рисунок 2.2.1.4.4).

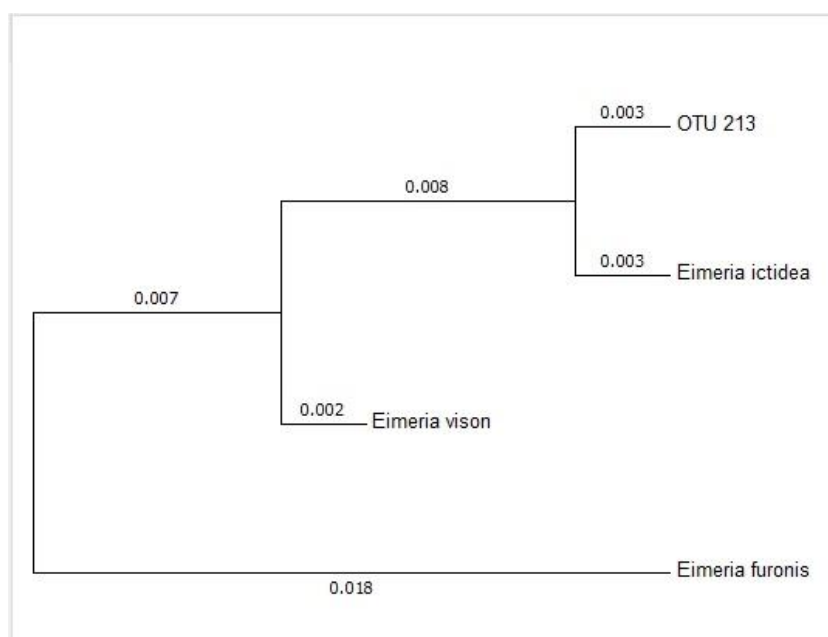


Рисунок 2.2.1.4.4 – Комбинированное дерево филогенетического анализа 18S рДНК

В ходе проведенного исследования только один вид изоспор *I. laidlawi*, был идентифицирован во всех во всех образцах, из которых удалось извлечь ДНК, что позволило успешно провести ПЦР и секвенировать небольшие фрагменты (383-585 п.н.) в 8 из 10 проб. Однако в этих же пробах были зарегистрированы наиболее похожие (с высоким процентом сходства 99,4%) последовательности *Cystoisospora canis* и *C. felis* и несколько отличались от последовательностей представителей видового комплекса *C. ohioensis*. Аналогично, последовательности mt COI *I. laidlawi* оказались наиболее сходны с последовательностями этих двух видов возбудителей цистоизоспороза плотоядных (*C. canis* и *C. felis*), крупные ооцисты яйцевидной формы, напоминают ооцисты характерные для *I. laydlawi*. Таким образом и морфометрия, и генотипирование подтверждают тесную связь между этими тремя видами эймериид плотоядных.

Проведенные нами исследования филогенетического анализа последовательностей 18S рРНК содержимого тонкого и толстого кишечника, показали, что только для двух образцов (101 и 105) было проведено глубокое секвенирование региона V4 гена 18S рРНК и биоинформатический анализ,

позволивший определить ОТЕ и установить их таксономическую принадлежность. Так, удалось выделить из обоих образцов кишечников норок ДНК *E. furonis*, *I. laidlawi* и *I. evermanni*. В образце 101 была обнаружена ДНК, *E. furonis* идентичность которой на 100% совпала с ранее опубликованными последовательностями локуса *nu 18S* из двух изолятов в Японии (GenBank AV329724).

Результаты генотипирования выделенных эймериид по локусу субъединицы I митохондриальной цитохромоксидазы были аналогичны полученным для локуса ядерной 18S рДНК.

На рисунке 2.2.1.4.2 приведены результаты rarefaction анализа, из которого видно, что уровень покрытия в 40 000 прочтений для обоих образцов более чем достаточный.

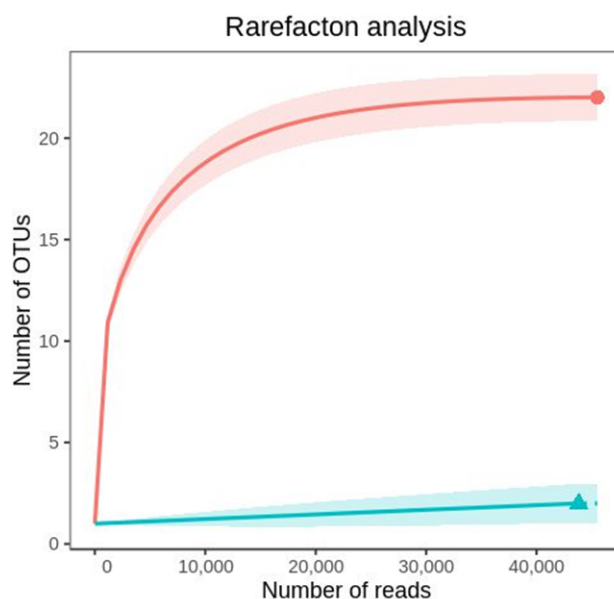


Рисунок 2.2.1.4.2 – Кривые зависимости числа выявленных 18S ОТЕ от общего числа нуклеотидных последовательностей (ридов) в разных образцах от норок: 101 (красный) и 105 (зеленый)

Важным также, является и то, что показатели размера и формы ооцист *E. furonis* и *I. laidlawi*, предварительно определенные при копроовоскопии на световом микроскопе, а также измеренные в гистологических срезах, не совпадали с ранее описанными в первоисточнике, несмотря на это, они получили молекулярное подтверждение идентичности. Таким образом,

измерения ооцист в гистологических срезах не может быть рекомендовано для использования при идентификации эймериид.

Помимо этого, несмотря на то, что в ходе копроовоскопических исследований нам никогда не удавалось обнаружить представителей семейства *Cryptosporidiidae*, при исследовании 18S рДНК из образцов кишечника нам удалось выделить ДНК криптоспоридий, которые оказались на 100% идентичны *Cryptosporidium spp.*, характерные именно для представителей данного вида животных. Это можно объяснить тем, что флотационными методами возможно обнаружить криптоспоридий при высоком содержании ооцист в 1 г фекалий, а для уверенной диагностики данных возбудителей требуется окраска по Цилю-Нильсону. И в этом случае молекулярные методы оказались более чувствительны при выявлении данного паразита.

Наши исследования подчеркивают важность и полезность молекулярно-генетических методов диагностики для уточнения видового состава эймериид норок. Используя молекулярные методы, мы смогли дифференцировать морфологически сходные виды эймерий, выделенные копроовоскопическим методом, и идентифицировать эймериид, наблюдаемых в гистологических срезах кишечника норок. Таким образом, молекулярные методы дополняют рутинные копроовоскопические методы диагностики, используемые для определения видов эймериид.

Тем не менее использование последовательностей nu 18S рДНК имеет ряд недостатков, так при идентификации паразитов трудно различить близкородственных эймерид из-за высоко консервативной природы локуса ядерной рибосомальной РНК. Напротив, последовательности mt COI, по видимому, более чувствительны для различения близкородственных видов кокцидий. Следовательно, для улучшения описания видов и филогенетического анализа необходимо комбинировать секвенирование по двум локусам nu 18S рДНК и mt COI.

Таким образом, молекулярные методы являются важными инструментами для определения и подтверждение принадлежности конкретных видов кокцидий, вызывающих вспышки эймериидозов в зверохозяйствах.

### 2.2.1.5 Видовой состав протозоозов и гельминтозов песцов в Северо-Западном регионе РФ

Изучение видового состава протозоозов и гельминтозов песцов проводили в период с 2012 по 2016 г. в двух зверохозяйствах, располагающихся в Ленинградской области, остальные обследованные нами предприятия не занимаются выращиванием крупного зверя. Проведены исследования проб фекальных масс, полученные от 1186 песцов разного пола и возраста. Образцы отбирали в разное время года.

Установлено, что среди 1186 обследованных песцов (*Vulpes lagopus*) у 535 были обнаружены эндопаразиты, ЭИ составила 45,11%. Нами были выявлены 3 вида изоспор – *I. vulpina*, *I. buriatica*, *I. canivelocis* и 3 вида гельминтов – *T. leonina*, *T. canis*, *D. latum*. Среди выявленных эндопаразитов в бóльшей степени преобладают гельминты, чем простейшие 52,89% и 47,11%, соответственно (Рисунок 2.2.1.5.1).

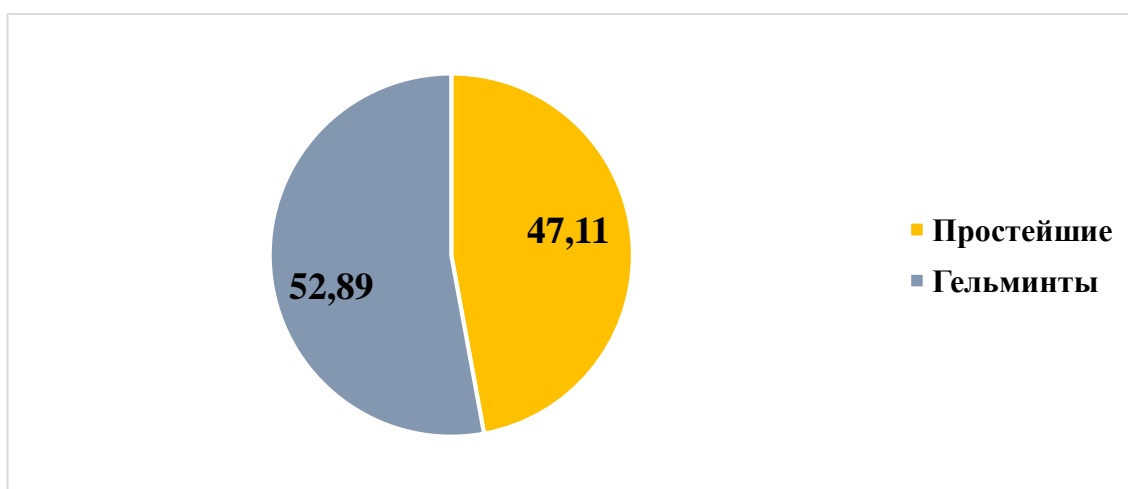


Рисунок 2.2.1.5.1– Процентное соотношение эндопаразитов у песцов

Чаще эндопаразитозы у песцов протекают в виде моноинвазий. Среди выявленных 535 зараженных песцов разного пола и возраста, у 450 была зарегистрирована инвазия одним видом паразита (84,11%), микстинвазия двумя видами была обнаружена у 79 животных (14,21%), а микстинвазия тремя паразитами – у 9 зверьков (1,68%) (Рисунок 2.2.1.5.2).

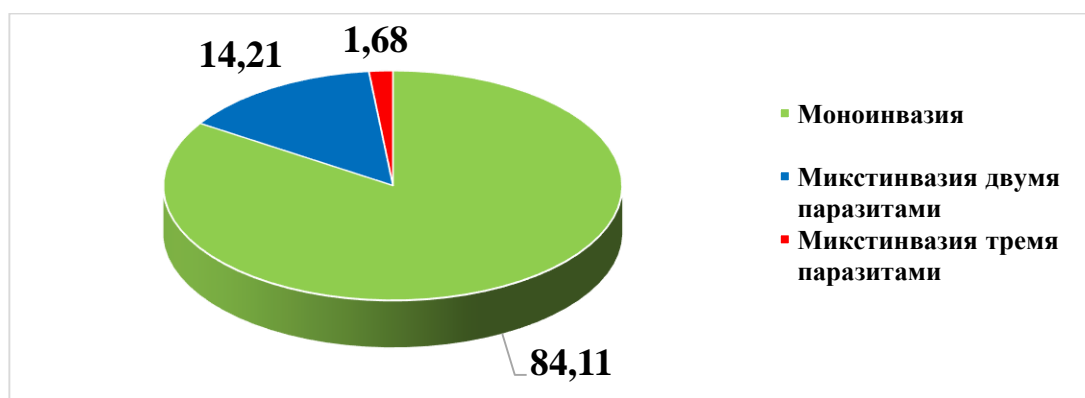


Рисунок 2.2.1.5.2 – Процентное соотношение моно- и микстинвазии среди зараженных песцов

Часто встречаемым видом нематод при моноинвазиях у песцов являлся вид *T. leonina* – среди зараженного молодняка он был обнаружен у 84,87%, а среди взрослых – у 64,71% (Рисунок 2.2.1.5.3).

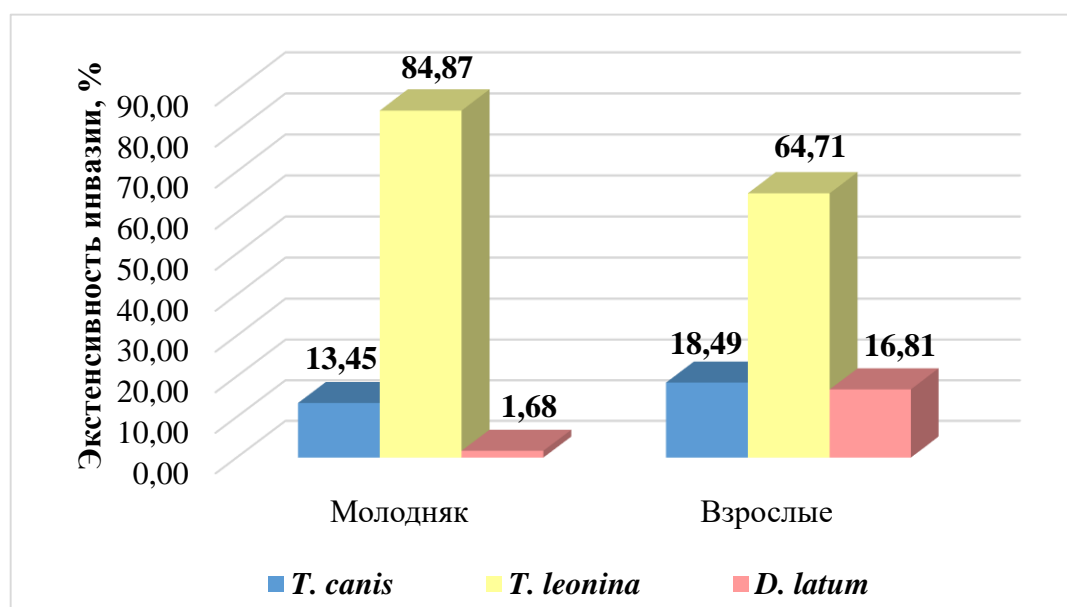


Рисунок 2.2.1.5.3 – Экстенсивность инвазии при моноинвазиях гельминтозами песцов разных возрастных групп

На втором месте по распространенности, как у молодняка, так и у взрослых песцов, стоит *T. canis* – 13,45% и 18,49%, соответственно. На третьем месте – *D. latum*: среди молодняка данный вид был обнаружен у 2 щенков и 22 взрослых песцов, что составляет 1,68% и 16,81%, соответственно. Вспышка дифиллоботриоза была зарегистрирована однократно и только в одном из двух обследованных зверохозяйств. Данная инвазия была связана с тем, что в корм животных попало не проваренное вторсырье (требуха) рыб, в частности щуки, окуня, ерша. Вместе с фекалиями у больных песцов во внешнюю среду выделялись яйца трематодного типа, которые были определены, как яйца *D. latum*, после проведенной дегельминтизации в фекалиях были обнаружены стробила гельминтов.

Самок среди зараженных гельминтами оказалось больше – 76, против 43 – у самцов, что составляет 63,87% и 36,13%, соответственно. На рисунке 2.2.1.5.4 представлена ЭИ гельминтозами взрослых песцов разного пола.

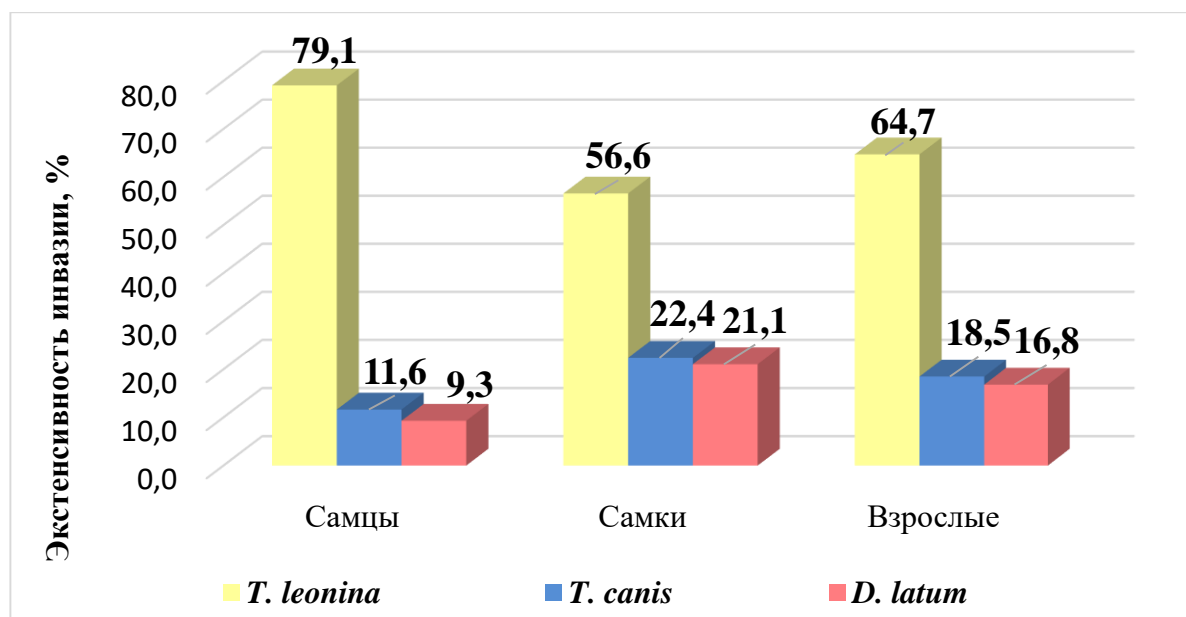


Рисунок 2.2.1.5.4 – Экстенсивность инвазии при моноинвазиях  
гельминтозами взрослых песцов разного пола

Наибольший процент среди гельминтозов, в частности *T. leonina*, наблюдался у самцов 79,1%, у самок данный показатель составлял 56,6%, а *T.*



*canis* был отмечен у 22,4% и 11,6% самцов. *D. latum* был зарегистрирован у 16 самок и 4 самцов, что составляет – 16,8% и 9,3%, соответственно.

На рисунке 2.2.1.5.5 представлена ЭИ простейшими среди песцов разного возраста.

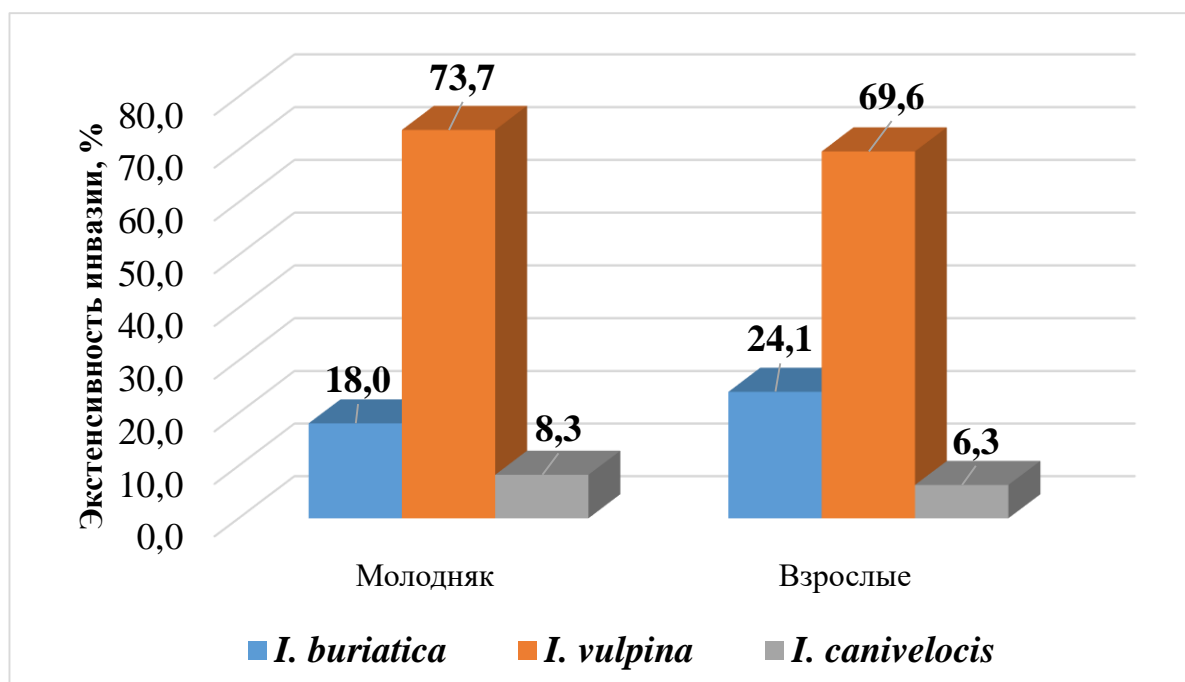


Рисунок 2.2.1.5.5 – Экстенсивность инвазии при моноинвазиях простейшими песцов разного возраста

Наиболее распространенным видом у песцов является вид *I. vulpina*, обнаруженный у 73,7% молодых и 69,6% взрослых песцов. Затем вид *I. buriatica*, который превалировал у взрослых животных – 24,1% и у 18% молодняка. Реже встречался вид *I. canivelocis*, отмеченный у 8 молодых и 6 взрослых животных, что составило 8,3% и 6,3%, соответственно.

Изучение видового состава моноинвазий эймериид показал, что среди самцов и самок превалировали виды *I. vulpina* – 72,1% и 67,1%, соответственно. Вторым видом *I. buriatica* чаще болели самки – 26,5%, самцы – 21,7%, вид *I. canivelocis*, встречался у 6,4% и 6,2%, соответственно (Рисунок 2.2.1.5.6).

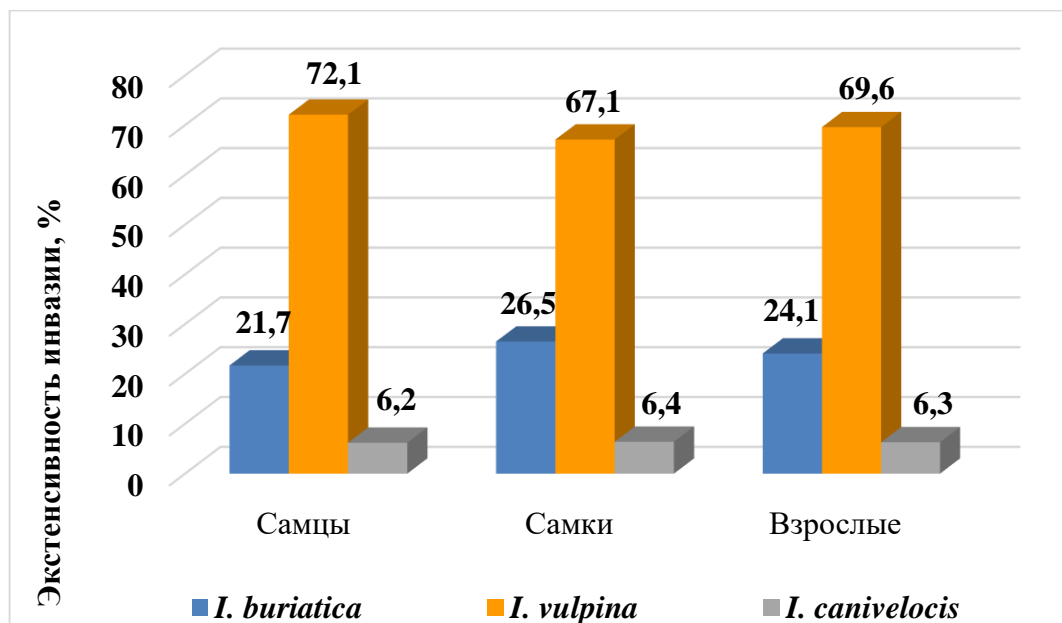


Рисунок 2.2.1.5.6 – Экстенсивность инвазии при моноинвазиях простейшими взрослых песцов разного пола

Среди гельминтов самым распространенным видом оказался *T. leonina*, выявленный у 178 (15,01%) зараженных песцов. При этом ИИ *T. leonina*, была достаточно высокой в обеих половозрастных группах песцов, и достигала  $13,2 \pm 2,5$  экз./гол., в среднем в 1 г фекалий, содержалось  $219,4 \pm 11,6$  яиц (Рисунок 2.2.1.5.7).

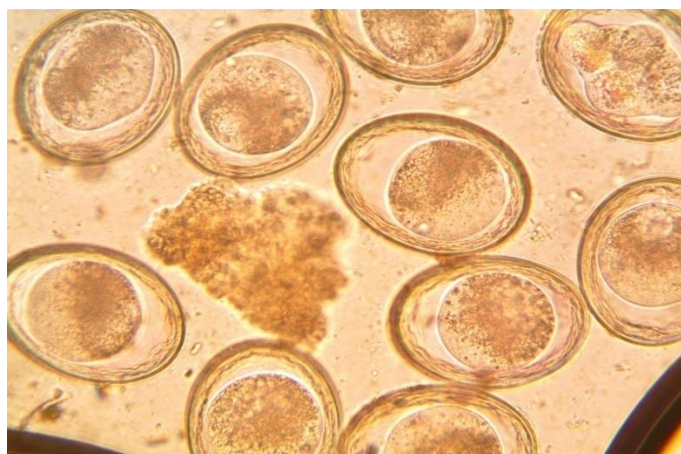


Рисунок 2.2.1.5.7 – яйца *T. leonina* (ув.: $\times 1440$ ) (оригинал)

Этот же вид оказался доминирующим в отношении всех остальных эндопаразитов, у молодняка текущего года рождения – 40,23% (Рисунок 2.2.1.5.8).

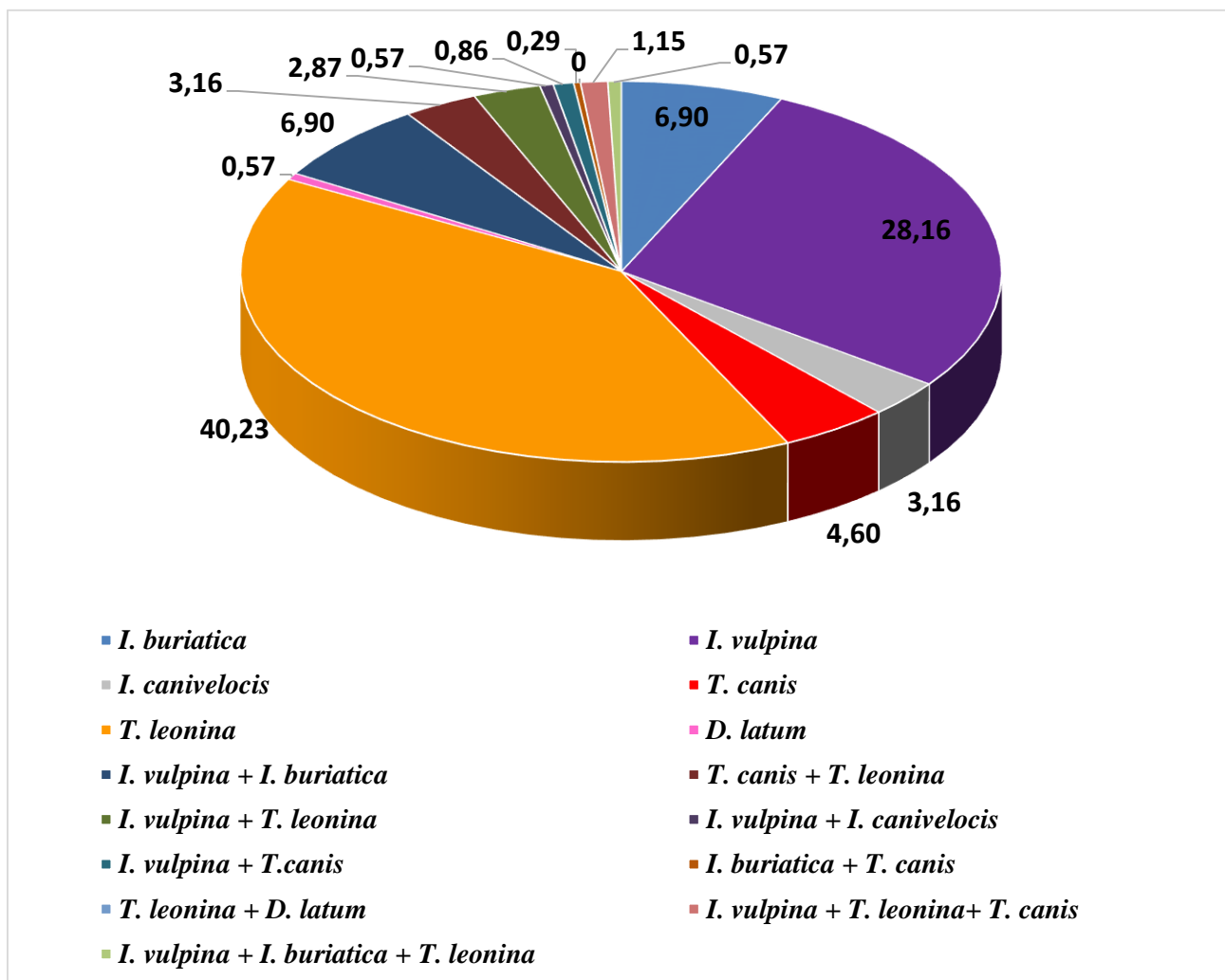


Рисунок 2.2.1.5.8 – Процентное соотношение видового состава кишечной паразитофауны у молодых песцов

На втором месте по встречаемости у молодых песцов среди зараженных животных стоит *I. vulpina* (28,16%). Изоспороз, вызванный *I. buriatica* и ассоциация двух простейших *I. vulpina + I. buriatica*, составляет по 6,9%. Далее по частоте встречаемости следуют *T. canis* (4,6%). Микстинвазия *T. canis + T. leonina* составляет (3,16%), *I. vulpina + T. leonina* (2,87%), полинвазия *I. vulpina + T. leonina + T. canis* (1,15%). Остальные эндопаразиты молодняка встречаются реже – в менее одном проценте случаев каждый.

У взрослых песцов показатели зараженности оказались иными (Рисунок 2.2.1.5.9).

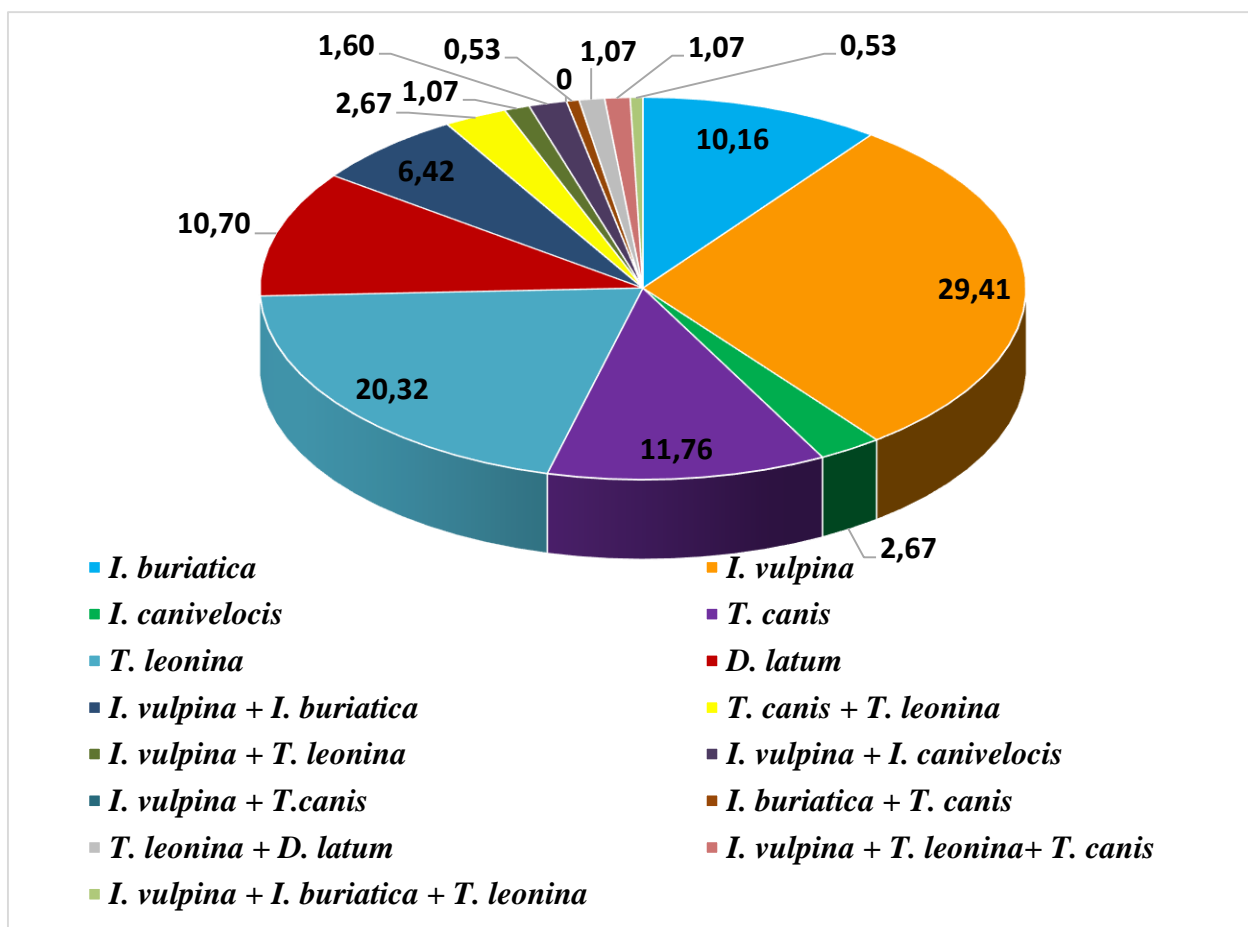


Рисунок 2.2.1.5.9 – Процентное соотношение видового состава кишечной паразитофауны у взрослых песцов

Преобладающим видом эндопаразитов у взрослых песцов является *I. vulpina* (29,41%). На втором месте по встречаемости среди зараженных животных стоит *T. leonina* (20,32%), далее следуют *T. canis* (11,76%), *D. latum* (10,7%), *I. buriatica* (10,16%).

Среди микстинвазий чаще всего у взрослых песцов регистрируются ассоциации двух паразитов: *I. vulpina* + *I. buriatica* (6,42%), *T. canis* + *T. leonina* (2,67%), *I. vulpina* + *T. leonina* (1,07%), *I. vulpina* + *I. canivelocis* (1,60%), *I. buriatica* + *T. canis* (0,53%), *T. leonina* + *D. latum* (1,07%); реже ассоциации

трех – *I. vulpina* + *T. leonina* + *T. canis* (1,07%), *I. vulpina* + *I. buriatica* + *T. leonina* (0,53%).

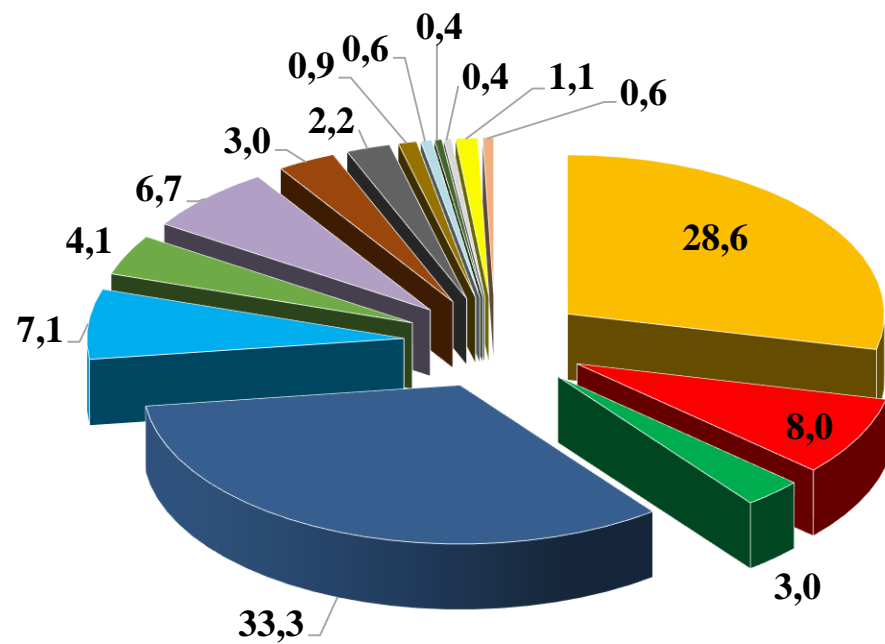
Таким образом, из обследованных нами 1186 песцов зараженными оказались 535 животных, ЭИ составила 45,11%, из которых на моноинвазию приходится 450 (37,94%), на микстинвазию двумя паразитами 76 (6,41%), а на полиинвазию тремя паразитами 9 (0,76%).

Гельминты среди зараженных песцов в обследованных зверохозяйствах встречаются чаще 238 (20,07%), против простейших 212 (17,88%). Показатели зараженности песцов эймеридами и гельминтами представлены в Таблице – 2.2.1.5.1.

Среди гельминтозов у песцов установлено два вида нематод и один вид цестод. Преобладающим видом нематод является *T. leonina* – 178 (15,01%), вид *T. canis* регистрировался в 5 раз реже и был обнаружен у 38 песцов (3,2%).

Среди простейших обнаружены три вида изоспор, преобладающим видом является *I. vulpina*, обнаруженный у 153 песцов (12,90%), *I. buriatica* встречается в 3,5 раза реже, чем *I. vulpina*. Этот вид был зарегистрирован у 43 животных, что составляет 3,63%. Вид изоспор *I. canivelocis* встречался в 9,5 раз реже и только у 16 песцов (1,35%).

В обследованных хозяйствах обнаружено 7 видов ассоциаций двумя видами паразитов и 2 вида инвазий, вызванных одновременным паразитированием трех видов (Рисунок 2.2.1.5.10).



- |                                      |   |  |
|--------------------------------------|---|--|
| ■ <i>I. vulpina</i>                  | ■ <i>I. burriatica</i>                      | ■ <i>I. canivelocis</i>                          |
| ■ <i>T. leonina</i>                  | ■ <i>T. canis</i>                           | ■ <i>D. latum</i>                                |
| ■ <i>I. vulpina + I. burriatica</i>  | ■ <i>T. canis + T. leonina</i>              | ■ <i>I. vulpina + T. leonina</i>                 |
| ■ <i>I. vulpina + I. canivelocis</i> | ■ <i>I. vulpina + T. canis</i>              | ■ <i>I. burriatica + T. canis</i>                |
| ■ <i>T. leonina + D. latum</i>       | ■ <i>I. vulpina + T. leonina + T. canis</i> | ■ <i>I. vulpina + I. burriatica + T. leonina</i> |

Рисунок 2.2.1.5.10 – Процентное соотношение эндопаразитов среди зараженных песцов

Таблица 2.2.1.5.1 – Показатели зараженности песцов эймеридами и  
гельминтами

<b>Виды эндопаразитов</b>	<b>Количество обследованных животных</b>	<b>Из них зараженных</b>	<b>% экстенсивности</b>
<i>I. vulpina</i>	<b>1186</b>	153	12,90
<i>I. buriatica</i>	<b>1186</b>	43	3,63
<i>I. canivelocis</i>	<b>1186</b>	16	1,35
<b>Итого простейших</b>	<b>1186</b>	<b>212</b>	<b>17,88</b>
<i>T. leonina</i>	<b>1186</b>	178	15,01
<i>T. canis</i>	<b>1186</b>	38	3,20
<i>D. latum</i>	<b>1186</b>	22	1,85
<b>Итого гельминтов</b>	<b>1186</b>	<b>238</b>	<b>20,07</b>
<b>Итого моноинвазии</b>	<b>1186</b>	<b>450</b>	<b>37,94</b>
<i>I. vulpina</i> + <i>I. buriatica</i>	<b>1186</b>	36	<b>3,04</b>
<i>T. canis</i> + <i>T. leonina</i>	<b>1186</b>	16	<b>1,35</b>
<i>I. vulpina</i> + <i>T. leonina</i>	<b>1186</b>	12	<b>1,01</b>
<i>I. vulpina</i> + <i>I. canivelocis</i>	<b>1186</b>	5	<b>0,42</b>
<i>I. vulpina</i> + <i>T. canis</i>	<b>1186</b>	3	<b>0,25</b>
<i>I. buriatica</i> + <i>T. canis</i>	<b>1186</b>	2	<b>0,17</b>
<i>T. leonina</i> + <i>D. latum</i>	<b>1186</b>	2	<b>0,17</b>
<b>Итого микстинвазия двумя паразитами</b>	<b>1186</b>	<b>76</b>	<b>6,41</b>
<i>I. vulpina</i> + <i>T. leonina</i> + <i>T. canis</i>	<b>1186</b>	6	<b>0,51</b>
<i>I. vulpina</i> + <i>I. buriatica</i> + <i>T. leonina</i>	<b>1186</b>	3	<b>0,25</b>
<b>Итого полиинвазии</b>	<b>1186</b>	<b>9</b>	<b>0,76</b>
<b>ВСЕГО</b>	<b>1186</b>	<b>535</b>	<b>45,11</b>

### 2.2.1.6 Видовой состав возбудителей эймериид и нематод лисиц

В результате проведенных исследований в одном из зверохозяйств Выборгского района Ленинградской области в период с 2015 по 2016 г. было обследовано 415 лисиц (*Vulpes vulpes*) из них 212 животных старше одного года и 203 щенков текущего года рождения, в результате ЭИ составила 52,05%.

Были выявлены следующие эндопаразиты: 3 вида изоспор – *I. vulpina*, *I. buriatica*, *I. canivelocis* и 3 вида гельминтов – *T. leonina*, *T. canis*, *Tr. vulpis*. Установлено, что среди эндопаразитов преобладают гельминты над простейшими 52,3% и 47,7%, соответственно (Рисунок 2.2.1.6.1).

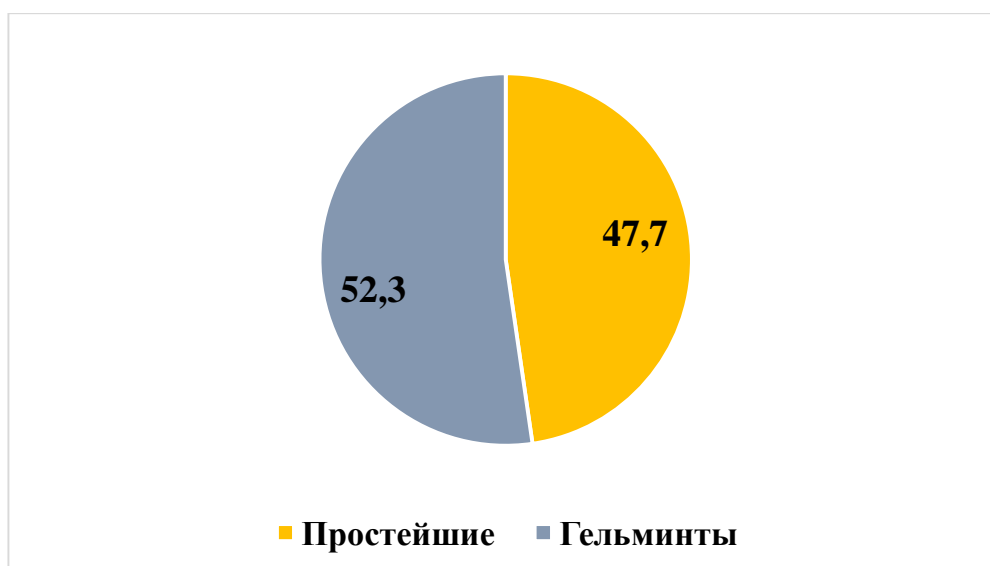


Рисунок 2.2.1.6.1 – Процентное соотношение эндопаразитов у лисиц

Данный показатель оказался практически таким же, как при обследовании песцов, проводимом нами ранее.

Эндопаразитозы у лисиц протекают в виде моноинвазий. У 174 из 216 животных была зарегистрирована инвазия одним видом паразита, что составило – 80,56%, микстинвазия двумя видами, была обнаружена у 35 лисиц – 16,2%, а микстинвазия тремя паразитами лишь у 7 зараженных животных – 3,24% (Рисунок 2.2.1.6.2).



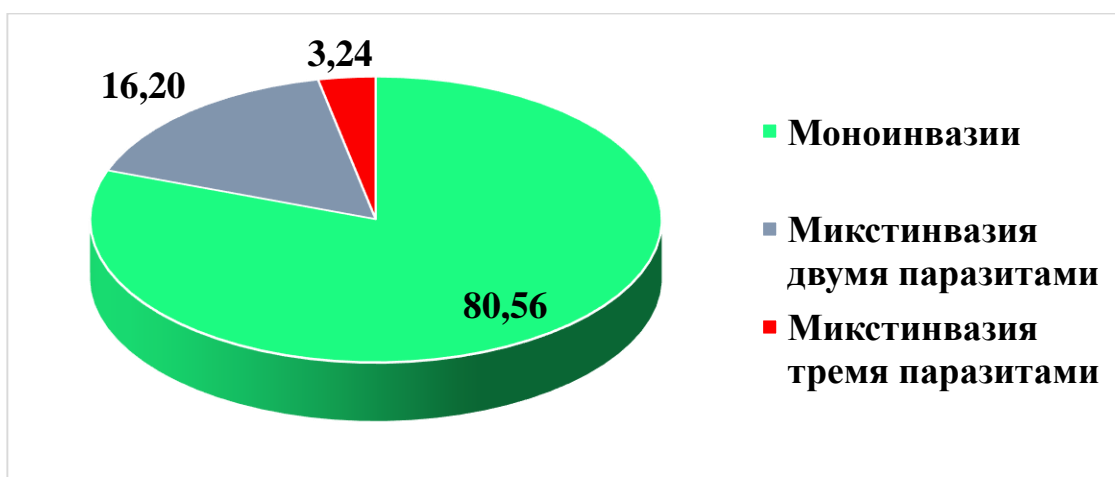


Рисунок 2.2.1.6.2 – Процентное соотношение моно- и микстинвазии среди зараженных лисиц

Анализ паразитофауны лисиц показал, что наиболее часто встречаемым видом при моноинвазиях простейшими являлся *I. vulpina*, а среди гельминтов – *T. leonina*. Тем Среди животных разного возраста преобладающими видами были разные гельминты (Рисунок 2.2.1.6.3).

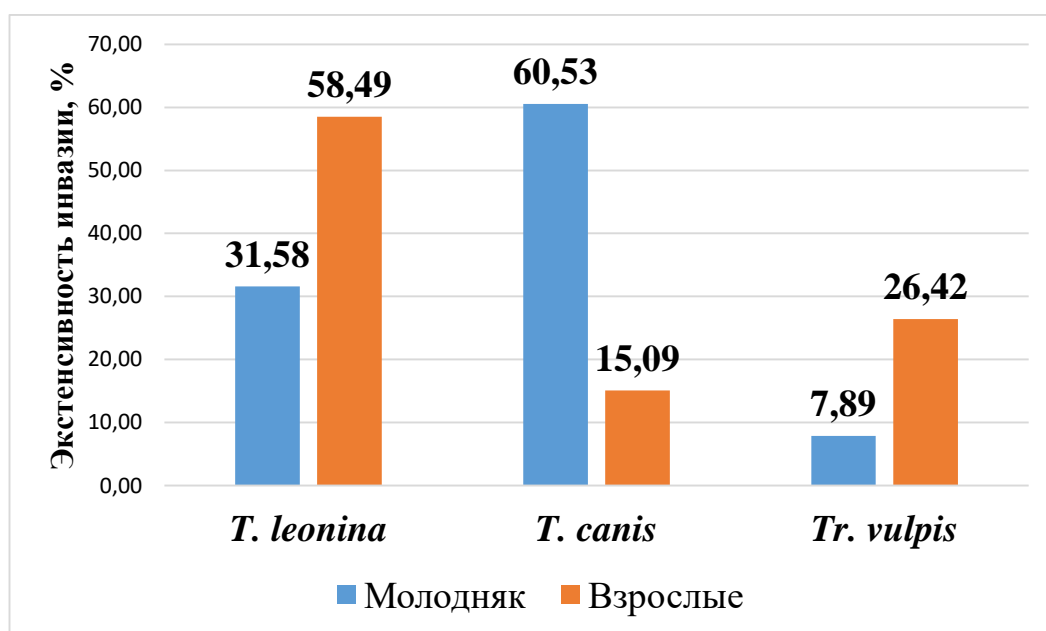


Рисунок 2.2.1.6.3 – Экстенсивность инвазии при моноинвазиях гельминтами лисиц разного возраста

Среди зараженного молодняка это был вид *T. canis* (ЭИ – 60,53%). У взрослых лисиц данный вид гельминта составлял лишь 15,09%.

Преобладающим видом у взрослых животных являлся *T. leonina* (ЭИ – 58,49%). У молодняка ЭИ составляла 31,58%. Вид *Tr. vulpis* чаще выявляли у взрослых – 26,42%, тогда как молодняк лисиц был заражен им в 7,89%.

Зараженность простейшими у взрослых лисиц старше года оказалась сравнительно низкой: было выявлено всего 7 заболевших животных, а среди молодняка – 76. На рисунке 2.2.1.6.4 представлена ЭИ среди лисиц разного возраста.

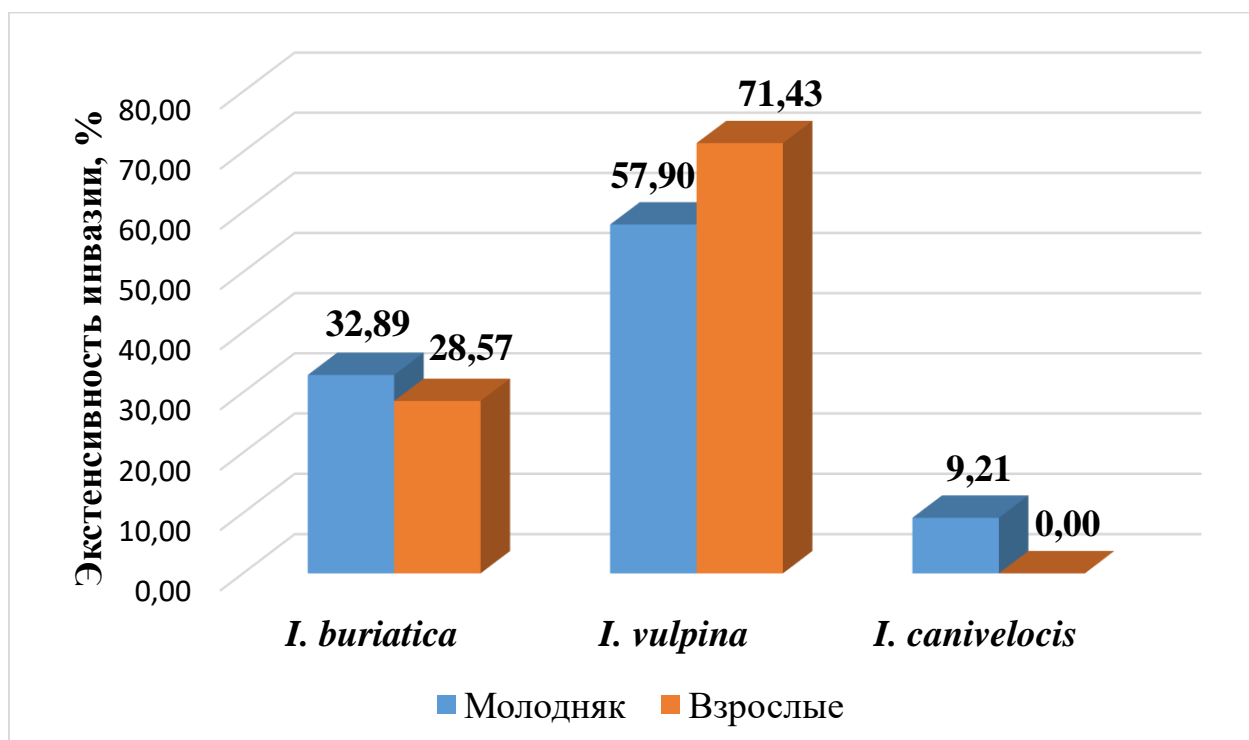


Рисунок 2.2.1.6.4 – Экстенсивность инвазии при моноинвазиях простейшими лисиц разного возраста

Наиболее распространенным видом эймериид у лисиц является *I. vulpina*, обнаруженный у 71,43% взрослых (5 животных), и 57,9% (44 молодых лисиц). На втором месте по встречаемости стоит *I. buriatica*, который встречался у 32,89% молодых животных и у 28,57% взрослых, и реже всего встречался *I. canivelocis*, который был отмечен всего лишь у 7 молодых лисиц, а у взрослых данный вид нам обнаружить не удалось.

У самок и самцов примерно одинаковое соотношение всех выявленных гельминтов. Из 212 обследованных взрослых лисиц зараженными

гельминтами оказалось 28 самок и 25 самца, что составляет 13,2% и 11,8%, соответственно.

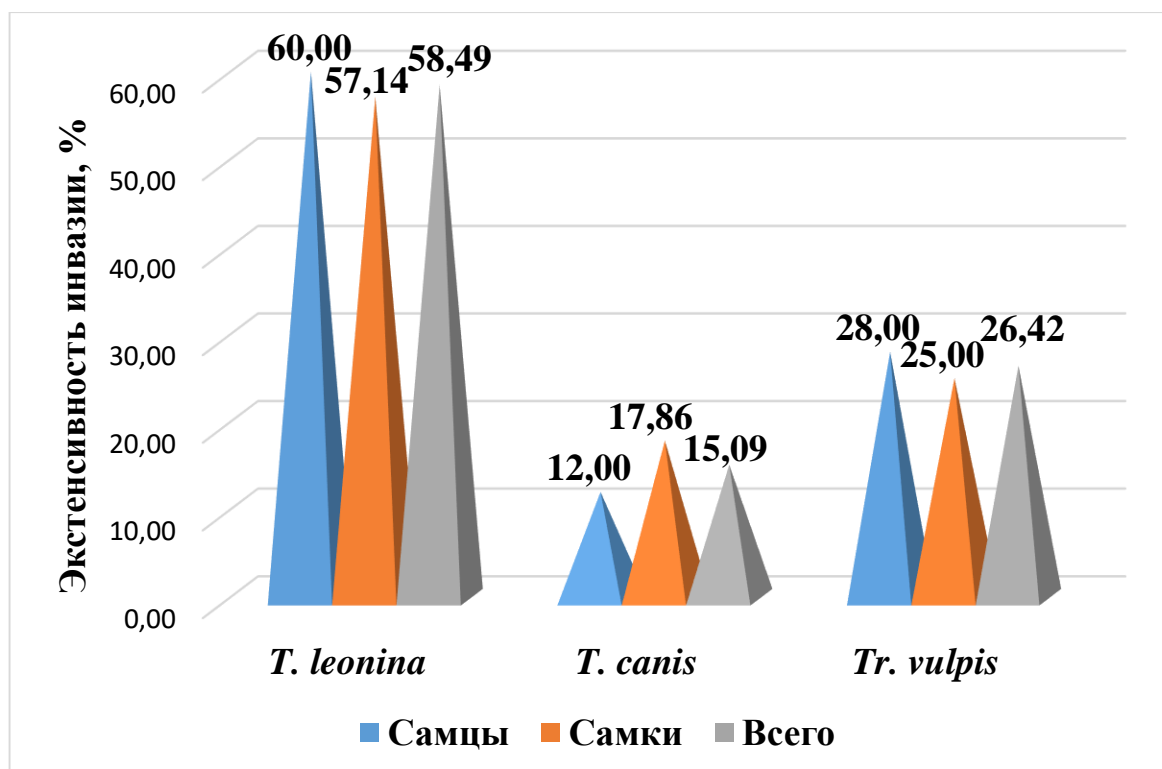


Рисунок 2.2.1.6.5 – Экстенсивность инвазии при моноинвазиях гельминтами у взрослых лисиц разного пола

ЭИ кишечными паразитами у взрослых лисиц составляла 38,20%, тогда как у молодняка данный показатель составлял 67%.

При этом паразитофауна у животных разного возраста отличалась. Наиболее разнообразный видовой состав кишечных паразитов был установлен у молодняка текущего года рождения (Рисунок 2.2.1.6.6). У данной группы животных доминирующим в отношении всех остальных эндопаразитов оказался вид *I. vulpina* (32,25%), на втором месте вид – *I. buriatica* (18,38%) и на третьем – *T. canis* (16,91%). Остальные паразиты и их ассоциации регистрировались гораздо реже. Далее по частоте встречаемости следуют: *T. leonina* (8,82%), *I. vulpina* + *I. buriatica* (7,35%), *I. canivelocis* (5,15%), *T. canis* + *T. leonina* (3,68%), *I. vulpina* + *T. canis* и *Tr. vulpis* по 2,21% каждый, а также

микстинвазии – *I. buriatica* + *T. canis* (1,47%), *I. vulpina* + *I. canivelocis* и *I. vulpina* + *T. leonina* по 0,74%, соответственно.

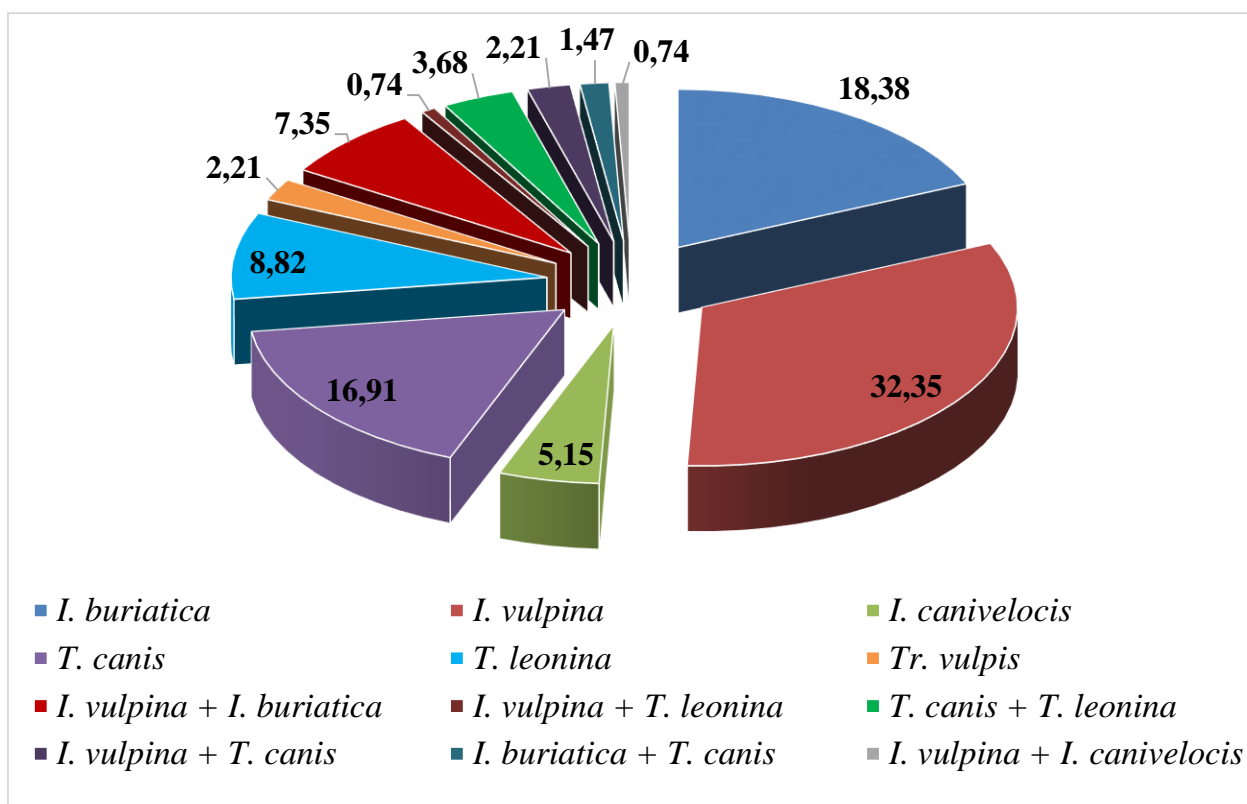


Рисунок 2.2.1.6.6 – Процентное соотношение видового состава кишечной паразитофауны у молодняка лисиц

Разнообразие паразитофауны у взрослых лисиц оказалось относительно бедным. В отличие от молодняка лисиц, взрослые животные в обследованных зверохозяйствах были практически свободны от простейших. Среди преобладающих видов эндопаразитов у взрослых животных был выявлен вид *T. leonina* (38,75%). На втором месте по встречаемости оказался паразит *Tr. vulpis* – 17,50%. Преобладающий у молодняка лисиц вид *I. vulpina* у взрослых животных встречался лишь в 6,25%, что более чем в пять раз меньше. Ассоциации двух паразитов составляли *I. vulpina* + *T. leonina* (8,75%) и *I. vulpina* + *I. buriatica* (7,50%), соответственно (Рисунок 2.2.1.6.7).

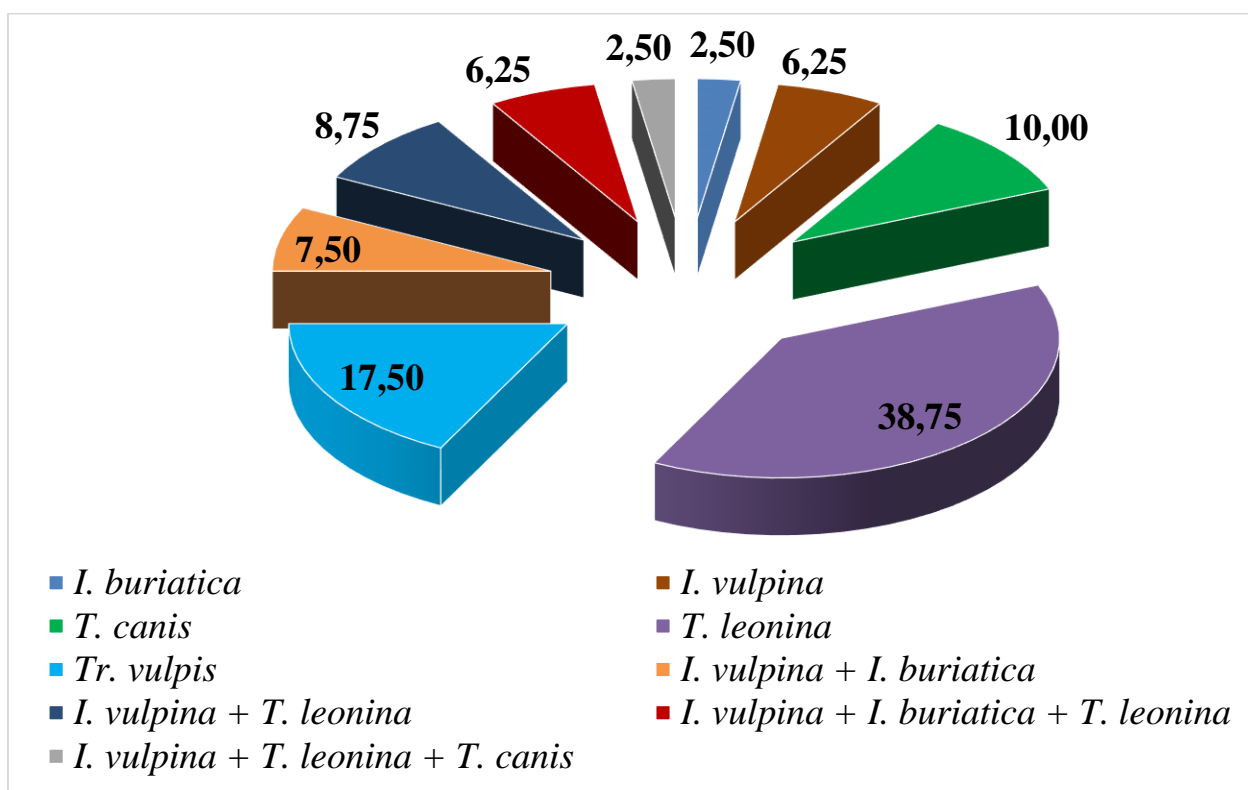


Рисунок 2.2.1.6.7 – Процентное соотношение видового состава кишечной паразитофауны у взрослых лисиц

Отдельно стоит отметить, что ассоциация трех паразитов была выявлена только у взрослых животных и была представлена следующими микстинвазиями: *I. vulpina* + *I. buriatica* + *T. leonina* (6,25%) и *I. vulpina* + *T. leonina* + *T. canis* (2,50%).

Из обследованных 415 лисиц, зараженными оказались 216 животных, ЭИ составила 52,05%, из которых на моноинвазию приходится 174 (41,93%), на микстинвазию двумя паразитами 35 (8,43%), а на полиинвазию тремя паразитами 7 (1,69%).

Гельминты среди зараженных моноинвазиями лисиц в обследованных зверохозяйствах встречаются чаще – 91 (21,93%), против простейших 83 (20,00%). Показатели зараженности песцов эймеридами и гельминтами представлены в таблице – 2.2.1.6.1.

У обследованных лисиц среди гельминтозов установлено три вида нематод. Преобладающим видом нематод является *T. leonina* – 43 (10,36%), на

втором месте – *T. canis* – 31 (7,47%) и на третьем *Tr. vulpis* – 17 (4,1%). Молодняк чаще был заражен *T. canis* (ЭИ – 60,53%), а у взрослых лисиц он составлял лишь – 15,09%. Преобладающим видом у взрослых животных являлся *T. leonina* (ЭИ – 58,49%). У молодняка этот показатель составил 31,58%. Вид *Tr. vulpis* чаще поражал взрослых – 26,42%, тогда как молодняк лисиц был заражен им в 7,89%.

Среди простейших обнаружены три вида изоспор. Преобладающим видом является *I. vulpina*, обнаруженный у 49 лисиц (11,81%), *I. buriatica* у 27 животных (6,51%), а третий обнаруженный вид изоспор *I. canivelocis* у 7 молодых особей (1,69%). У взрослых же лисиц данный вид ни разу отмечен нами не был.

Тем не менее, ассоциация трех паразитов встречалась только у взрослых лисиц. У молодняка были зарегистрированы лишь микстинвазии двумя паразитами.

Всего на микстинвазии приходилось чуть больше 10%. В обследованных зверохозяйствах обнаружено шесть видов ассоциаций двумя видами паразитов и 2 вида микстинвазий вызванных одновременным паразитированием трех видов (Рисунок 2.2.1.6.8).

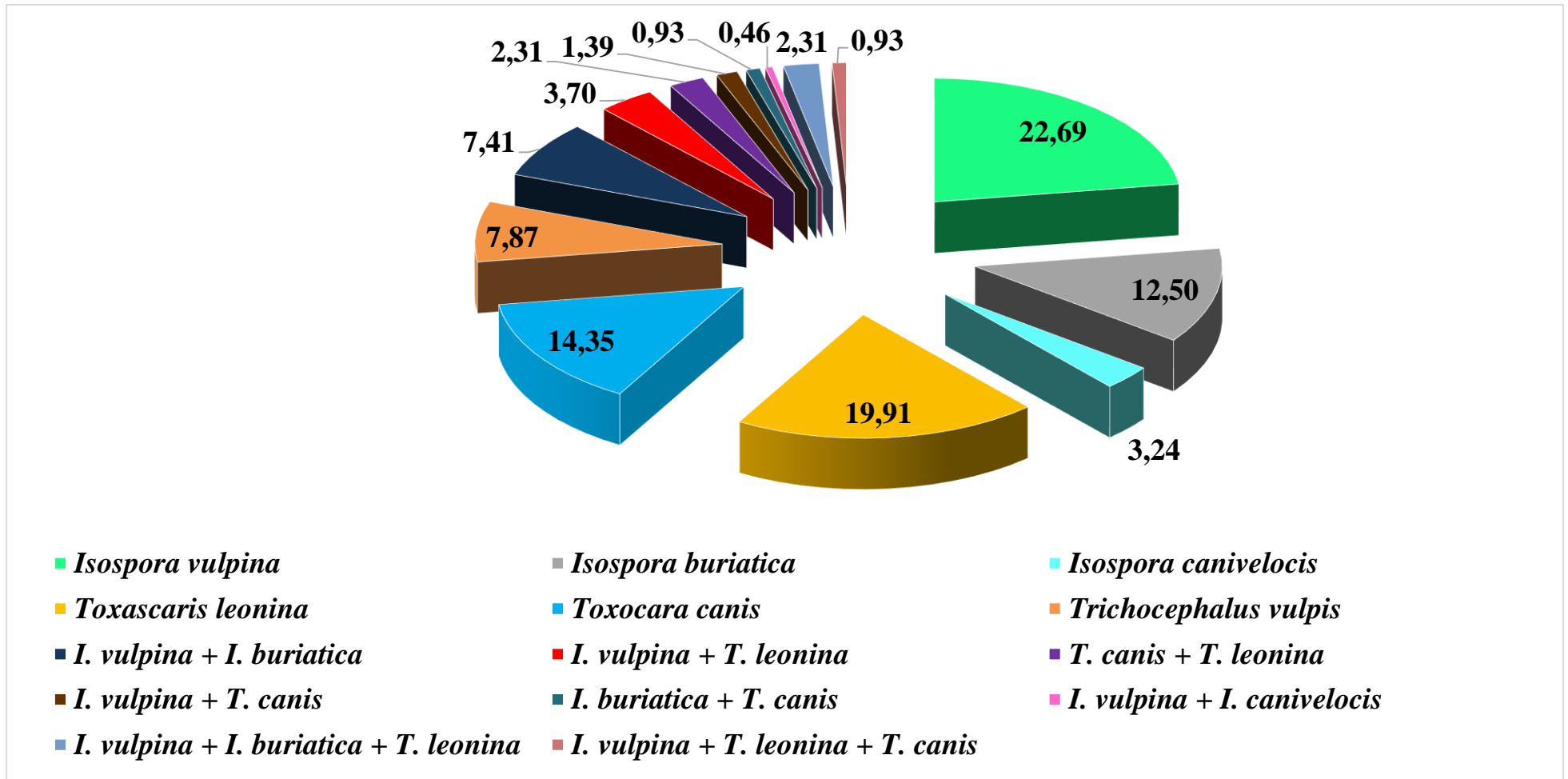


Рисунок 2.2.1.6.8 – Процентное соотношение эндопаразитов среди зараженных лисиц

Таблица 2.2.1.6.1 – Показатели зараженности лисиц эймеридами и  
гельминтами

Виды эндопаразитов	Количество обследованных животных	Из них зараженных	% экстенсивности
<i>I. vulpina</i>	415	49	11,81
<i>I. buriatica</i>	415	27	6,51
<i>I. canivelocis</i>	415	7	1,69
<b>Итого эймериид</b>	<b>415</b>	<b>83</b>	<b>20,00</b>
<i>T. leonina</i>	415	43	10,36
<i>T. canis</i>	415	31	7,47
<i>Tr. vulpis</i>	415	17	4,10
<b>Итого нематод</b>	<b>415</b>	<b>91</b>	<b>21,93</b>
<b>Итого моноинвазии</b>	<b>415</b>	<b>174</b>	<b>41,93</b>
<i>I. vulpina</i> + <i>I. buriatica</i>	415	16	3,86
<i>I. vulpina</i> + <i>T. leonina</i>	415	8	1,93
<i>T. canis</i> + <i>T. leonina</i>	415	5	1,20
<i>I. vulpina</i> + <i>T. canis</i>	415	3	0,72
<i>I. buriatica</i> + <i>T. canis</i>	415	2	0,48
<i>I. vulpina</i> + <i>I. canivelocis</i>	415	1	0,24
<b>Итого микстинвазия двумя паразитами</b>	<b>415</b>	<b>35</b>	<b>8,43</b>
<i>I. vulpina</i> + <i>I. buriatica</i> + <i>T. leonina</i>	415	5	1,20
<i>I. vulpina</i> + <i>T. leonina</i> + <i>T. canis</i>	415	2	0,48
<b>Итого полиинвазии</b>	<b>415</b>	<b>7</b>	<b>1,69</b>
<b>ВСЕГО</b>	<b>415</b>	<b>216</b>	<b>52,05</b>



### 2.2.1.7 Морфологическая и биологическая характеристики выявленных видов эймериид и гельминтов у песцов и лисиц

#### *Isospora vulpina* Nieschulz & Bos, (1933)

Данные изоспоры были обнаружены флотационными методами у 153 песцов и у 49 лисиц. Их ооцисты удлиненно-овальной или эллипсоидной формы, светло-серого цвета. Оболочка их была гладкая, двухслойная, толщиной 1,2-1,3 мкм. Микропиле и полярная гранула отсутствовали.

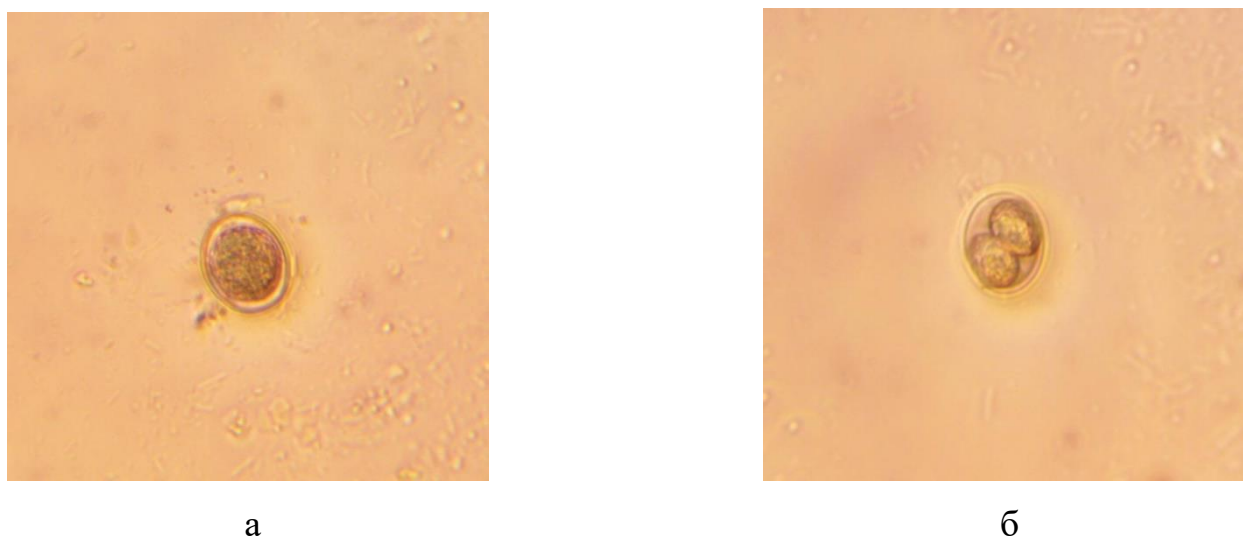


Рисунок 2.2.1.7.1 – Ооциста *I. vulpina* (оригинал)

а – неспорулированная ооциста, х690; б – спорулированная ооциста, х690

Размеры ооцист в среднем были  $27,5 \pm 0,34 \times 21,20 \pm 0,21$  мкм. Индекс формы – 1,29-1,31. Споруляция продолжалась 72 ч. В результате в зрелых ооцистах формировались две овальные спороцисты величиной  $13,6-17,4 \times 10,2-12,6$  мкм. В спороцистах было по четыре спорозоида веретенообразной формы, величиной  $14,2 \times 3,2$  мкм. Остаточного тела в ооцисте отсутствовало. Данные морфологические признаки позволили отнести паразита к *I. vulpina*.

Ооцисты *I. vulpina* у лисиц отличаются от аналогичных видов у песцов и составляют в среднем –  $25,93 \pm 0,17 \times 21,62 \pm 0,14$  мкм.

**Синонимы:** *Cystoisospora vulpine* Nieschulz and Bos, (1933); Frenkel, (1977); *Isospora vulpina var. vulpina* Mantovani, (1965); *Isospora vulpina var. aprutina* Mantovani, (1965); *I. aprutina* Mantovani, (1965) emend. Pellerdy, (1974).

*Isospora buriatica* Yakimoff&Matschoulsky, (1940)

При копрологических исследованиях фекальных масс, отобранных от 1186 животных, изоспоры этого вида обнаружены у 43 (3,63%) из 535 зараженных песцов и 27 (6,51%) из 216 зараженных лисиц. Ооциста кокцидий яйцевидной формы, светло-серого цвета, оболочка их гладкая, двухслойная, толщиной 1,3-1,9 мкм, внешний слой стенки толстый и более светлый, по отношению к внутреннему. Микропиле и полярная гранула отсутствовали (Рисунок 2.2.1.7.2).



Рисунок 2.2.1.7.2 – Неспорулированная ооциста *I. buriatica* (оригинал), x1020

Размеры ооцист в среднем  $36,6 \pm 0,54 \times 28,4 \pm 0,38$  мкм. Индекс формы – 1,2-1,55. Споруляция ооцист длилась около 48 ч. Остаточное тело в ооцисте отсутствовало. Сформированные спороцисты овальной формы, величиной  $19,54-20,0 \times 11,06-14,1$  мкм. Спорозоиты запятовидной формы, величиной  $9,76-12,42 \times 3,04-3,65$  мкм. Описанный вид изоспор паразитирует в тонком кишечнике, по совокупности морфобиологических признаков ооцист, это позволило отнести их к *I. buriatica*.

Ооцисты *I. buriatica* у лисиц отличаются от таковых у песцов и имеют размеры  $29,6-43,4 \times 18,9-34,9$  мкм, в среднем –  $34,6 \pm 0,19 \times 27,4 \pm 0,22$  мкм. Спорозоиты запятовидной формы, величиной  $9,82-12,3 \times 3,02-3,62$  мкм. Индекс формы – 1,26-1,36. Описанный вид изоспор паразитирует в тонком кишечнике.

***Isospora canivelocis* Weidman, (1915)**

У 16 (1,35%) песцов и у 7 (1,67%) лисиц также были обнаружены ооцисты сферической или овальной формы, светло-желтого цвета. Оболочка ооцисты была гладкая, двухслойная, толщиной 1,2-1,4 мкм. Микропиле и полярная гранула отсутствовали. Размеры ооцист в среднем была  $30,29 \pm 0,37 \times 26,3 \pm 0,59$  мкм. Индекс формы – 1,08-1,19. Споруляция ооцист продолжалась 72 ч. Остаточное тело в ооцисте отсутствовало. Спороцисты были овальной формы, величиной  $13,4-20,4 \times 9,02-13,2$  мкм, в них по четыре спорозоида запятовидной формы, величиной  $9,5-11,6 \times 2,8-3,2$  мкм и остаточное мелкозернистое тело. Данные ооцисты были отнесены к *I. canivelocis* (Рисунок 2.2.1.7.3).



Рисунок 2.2.1.7.3 – Ооциста *I. canivelocis*, x1020 (оригинал)

Ооцисты *I. canivelocis* у лисиц несколько отличаются от таковых у песцов и составляют в среднем  $30,29 \pm 0,37 \times 26,3 \pm 0,59$  мкм.

**Синонимы:** *Eimeria bigemina* var. *canivelocis* Weidman, (1915); *Coccidium bigeminum* var. *canivelocis* Weidman, (1915); *Isospora bigemina* var. *canivelocis* Weidman, (1915); *I. canivelocis* Weidman, (1915).

***Toxascaris leonina* Linstow, (1902)**

При копроовоскопических исследованиях у 178 (15,01%) песцов, и у 43 (10,36%) зараженных лисиц были обнаружены яйца *Toxascaris leonina*

размером 0,075-0,085 мм в диаметре с гладкой наружной оболочкой (Рисунок 2.2.1.7.4).



Рисунок 2.2.1.7.4 – Яйца *T. leonina* (оригинал)

При вскрытии павших и вынужденно подвергнутых эвтаназии животных в тонком кишечнике обнаруживались гельминты светло-жёлтого цвета. Их головной конец был снабжён узкими боковыми крыльями. Самцы длиной 4-8 см имели постепенно утончающийся хвост без конусовидного придатка и две равные спикулы. Отверстие вульвы у самок находилось в передней трети тела. Пищевод их был простой, цилиндрический. Что позволило отнести их к семейству Ascaridae, роду *Toxascaris*, виду *T. leonina*.

#### ***Toxocara canis* Werner, (1782)**

Яйца токсокар выделяли флотационными методами и дифференцировали их от других объектов по морфологическим признакам. Они крупные, размером 65-75 и 50-70 мкм. Наружная оболочка яиц толстая, плотная, мелкобугристая, напоминающая поверхность наперстка, цвет ее был от светло-коричневого до темно-коричневого. Внутри незрелого яйца расположен шаровидный темный бластомер (Рисунок 2.2.1.7.5), заполняющий почти все яйцо.



Рисунок 2.2.1.7.5 – Яйцо *T. canis* (оригинал)

При проведении неполного гельминтологического вскрытия в тонком кишечнике у песцов и лисиц обнаруживались нематоды светло-жёлтого цвета, ротовое отверстие которых было окружено тремя губами, головной конец снабжён широкими крыльями. Самец 5-10 см длины, на хвостовом конце утончённый конический придаток и две равные спикулы. Самка 9-18 см длины, половое отверстие в передней части тела. При просветлении передней части тела 50% раствором глицерина на пищеводе обнаруживали расширение, что позволило отнести их к семейству Anisakidae. Возбудитель токсокароза относится к семейству Anisakidae Skrjabin et Korokhin, (1945), роду *Toxocara* Stiles, (1905), виду *T. canis* Werner, (1782)

***Diphyllobothrium latum* L., (1758) Liihe, (1910)**

В одном из зверохозяйств Ленинградской области у некоторых песцов на поверхности фекальных масс были обнаружены стробилы гельминта *D. latum*. Членики гельминта были короткие, но широкие. Длина крайнего членика 6,5 мм, ширина 14,5 мм. По бокам членика расположено множество семенников в виде точек. Половые отверстия открываются по средней линии на вентральной поверхности членика. Яичник по форме напоминает крылья бабочки и находится позади матки.

При дальнейшей диагностике у животных были отобраны фекальные массы на исследование флотационными методами. В результате обнаружены яйца овальной формы, размеры которых варьировались в пределах 0,065-0,071



х 0,041-0,045 мм, серого цвета, трематодного типа – с крышечкой и хорошо выраженным штифтом (Рисунок 2.2.1.7.6).



Рисунок 2.2.1.7.6 – Яйцо *D. latum* (оригинал)

***Trichocephalus vulpis* Schrank, (1788).**

Яйца паразита были желтовато-коричневого или золотисто-желтого цвета, бочкообразной формы, на полюсах имели бесцветные «пробочки». Оболочка яйца гладкая, толстая. В длину яйца были 47-57 мкм, в ширину 22-23 мкм (Рисунок 2.2.1.7.7).



Рисунок 2.2.1.7.7 – Яйцо *Tr. vulpis*(оригинал)

При вскрытии вынужденно убитых животных в их толстом кишечнике находили тонких нематод, передний конец тела которых составлял примерно 2/3 длины тела, нитевидно вытянут, а задний – короткий и толстый. У самок задний конец в виде саблевидно изогнутой дуги, у самца – спиралевидно закручен.

Половой диморфизм выражен слабо, длина самца – 3-4,5 см, самки – 3,5-5,5 см. После просветления гельминта 50% раствором глицерина установили, что в передней части расположен длинный и тонкий пищевод. Данного паразита отнесли к семейству Trichosephalidae, роду *Trichocephalus*, виду *Tr. vulpis*.

По результатам проведенных исследований можно сделать вывод, что возбудители эймериидозов и гельминтозов песцов и лисиц широко распространены в зверохозяйствах Северо-Западного региона.

#### **2.2.1.8 Видовой состав возбудителей арахноэнтормозов пушных зверей и эпизоотическая ситуация по ним в Северо-Западном регионе РФ**

Согласно литературных данных арахноэнтормозы имеют широкое распространение среди пушных зверей, они протекают с характерной сезонной динамикой, что объясняется биологией возбудителя [52, 65, 72, 86].

Видовой состав, распространение и другие вопросы эпизоотологии арахноэнтормозов изучали в период с 2017 по 2018 г. в двух зверохозяйствах в Ленинградской и одном в Калининградской областях. Всего было исследовано 240 норок, 84 песца и 65 лисиц разного пола и возраста.

Отбор блох осуществляли методом вычесывания волосяного покрова животных. Чесоточных клещей обнаруживали в глубоких соскобах с поверхности тела песцов при соблюдении правил асептики и антисептики на границе здорового и пораженного участков кожи. Из ушных раковин брали поверхностные соскобы при помощи ушных ватных палочек и затем полученные образцы просматривали под микроскопом.

Из 240 норок у 82 животных были обнаружены блохи рода *Stenocephalides*. ЭИ ктеноцефалидозом составила 34,16%. У 68,75% (165 норок) были выявлены патологические изменения в виде атопического дерматита, сопровождающегося зудом и эритемой кожного покрова. Это

может быть связано с тем, что блохи являются временными паразитами на теле животных. Среди 25% (60-ти обследованных норок) в местах расчесов шерстный покров был редкий. У 6,25% пораженных животных не было обнаружено патологических изменений, но было выявлено наличие эктопаразитов (Рисунок 2.2.1.8.1).



Рисунок 2.2.1.8.1 – Процентное соотношение признаков присутствия блох на животных

Для определения вида блох, помещали в каплю воды при помощи пинцета и кисточки для акварели и накрывали покровным стеклом. Затем сортировали в отдельные пробирки с 70°-м спиртом, этикетировали, указывая возраст, пол, номер шеда, номер клетки. Для более качественной диагностики блох помещали в 10% раствор едкой щелочи (NaOH). После щелочь сливали, а блох промывали в воде несколько раз. Затем блох промывали в спиртах сначала в 96° (3 часа, сливая 2 раза), потом в абсолютном (3 часа, сливая 1 раз). Из абсолютного спирта блох переносили в гвоздичное масло (Рисунок 2.2.1.8.2 А, Б).



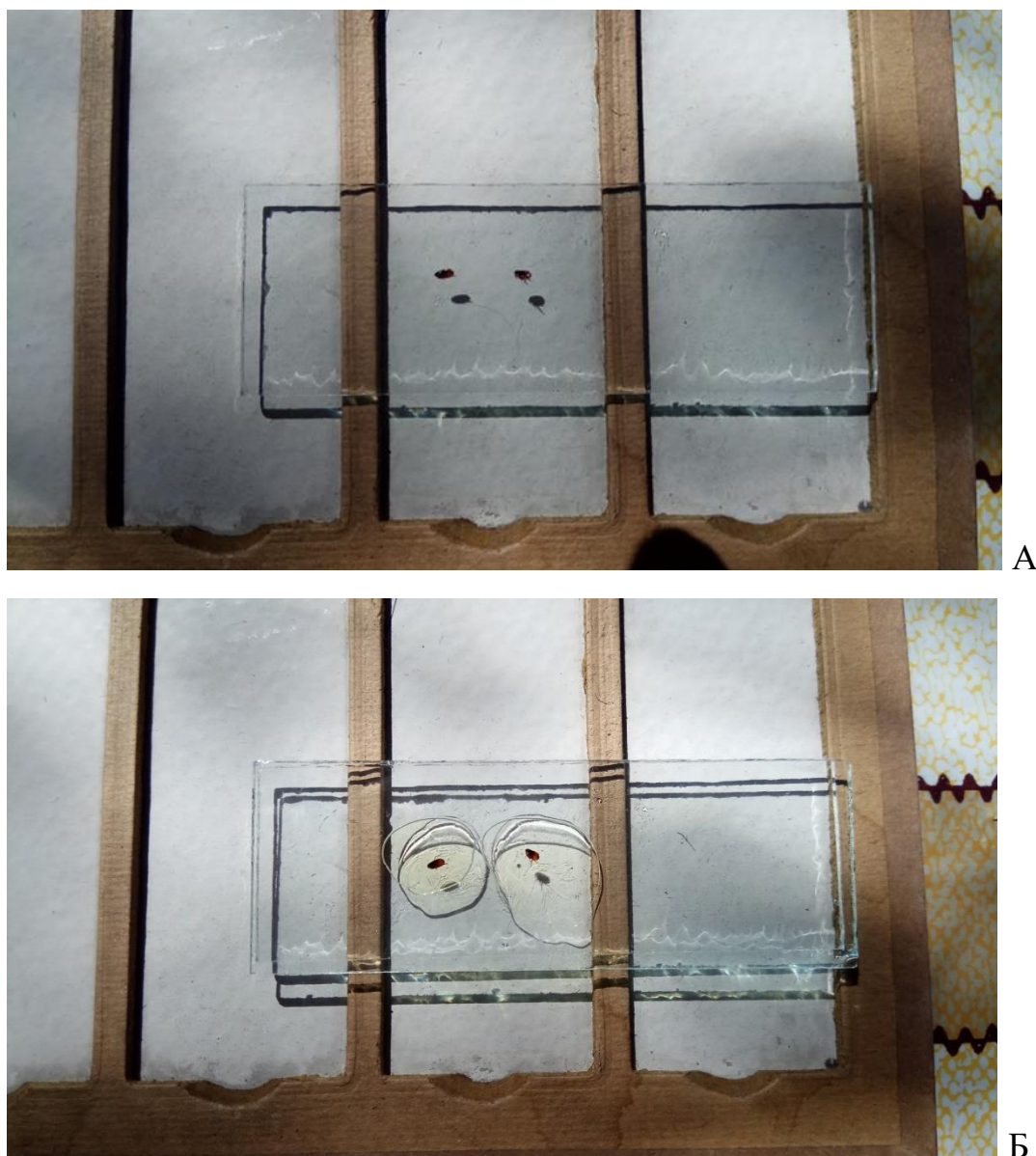


Рисунок 2.2.1.8.2 (А, Б) – Изучение блох, полученных от норок  
(до и после нанесения гвоздичного масла) (оригинал)

По морфологическим признакам обнаруженных блох определили до видов – *Stenocephalides canis* и *St. felis*.

*St. felis* имеет пологий, особенно у самок, лоб; зубцы ротового ктенидия длинные. Хоботок короткий. Стигмы брюшных тергитов небольшие. На задних лапках имеются шесть щетинок. У самца рукоятка половой клешни слабо расширяется к переднему концу;

*Ct. canis* имеет более или менее крутой лоб у обоих полов, зубы ротового ктенидия короткие. Стигмы брюшных тергитов более крупные. На задних лапках имеются восемь щетинок. У самца рукоятка половой клешни сильно расширена к переднему концу.

В результате проведенных нами исследований было установлено, что норки были поражены блохами вида – *Ct. felis*.

Кошачья блоха – *Ct. felis* (Bouche, 1835) является представителем одного из 13 видов рода *Ctenocephalides*. Самки откладывают яйца, на теле хозяина, а также в окружающей среде. Однако, согласно литературным данным [65, 87] в условиях звероводческих хозяйств продолжительность жизни блох может увеличиться до 16 недель, к сожалению, нам не удалось подтвердить или опровергнуть эти данные.

У норок всех возрастов были зарегистрированы многочисленные поражения блохами в конце лета и начале осени.

Ктеноцефалидозом также болеют и песцы. Мы обнаруживали блох во время фиксации и взятия крови у этой группы животных, однако специальных исследований не проводили.

У песцов и лисиц был зарегистрирован отодектоз, вызванный возбудителем – *O. cynotis* (Hering, 1938) у всех 84 обследованных взрослых песцов и 65 лисиц, а также у 38 молодых песцов и 36 молодых лисят. Во время исследования были обнаружены характерные поражения внутренней стороны ушной раковины, зуд, расчесы в области ушей и головы.

Экстенсивность отодектозной инвазии у взрослых песцов в течение года колебалась в пределах 63,0-100%, у лисиц 55,4-100%. Среди молодняка песцов 42,1-100%, а среди молодняка лисиц 36,1-100%.

Первые клинические признаки наблюдались в конце лета, а пик инвазии приходился на середину осени. Наибольшее количество взрослых зверей поражается отодектозом с июля (63,0-82,1% у песцов и 55,4-61,5% у лисиц) по октябрь (64,3-83,3% у песцов и 61,5-87,7 у лисиц) и их щенки с июня (42,1-

47,4% у песцов и 36,1-55,5% у лисиц) по ноябрь у обоих видов у животных всех возрастов (100%). ИИ при этом выше у молодняка по сравнению с взрослыми животными, в среднем по 16 и 9 особей, соответственно (Рисунок 2.2.1.8.3).

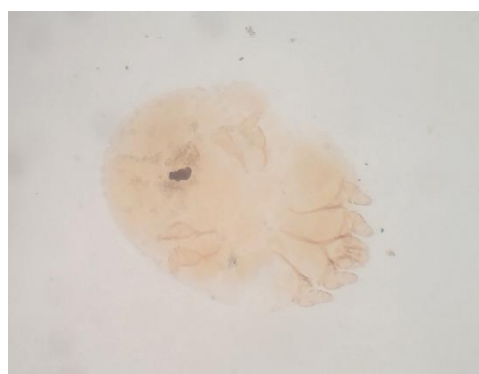


Рисунок 2.2.1.8.3 – Клещи *O. cynotis* (оригинал)

Помимо отодектоза была зарегистрирована вспышка саркоптоза у двух групп песцов (21 и 24 животных) из разных зверохозяйств. Клинические признаки болезни начали регистрироваться в конце зимы, в период с февраля по март. При взятии соскобов с границы здоровой и пораженной кожи были обнаружены клещи *Sarcoptes s. var. canis* (в одном соскобе по 4-6 особей) (Рисунок 2.2.1.8.4).



А



Б

Рисунок 2.2.1.8.4 – Клещ *Sarcoptes var. canis* (оригинал)

А – клещ с дорсальной стороны; Б – клещ с вентральной стороны

Установлено достаточно широкое распространение эктопаразитов в обследованных зверохозяйствах. Отодектоз среди песцов и лисиц встречается

в течение всего года. ЭИ колебалась в пределах 63,0-100% и 55,4-100%, соответственно. Среди молодняка песцов ЭИ составляла от 42,1 до 100%, а среди молодняка лисиц от 36,1 до 100%.

Пик инвазии приходился на середину осени, тогда как первые клинические признаки наблюдались с конца лета. Наибольшее количество взрослых зверей поражается отодектозом с июля (63,0-82,1% у песцов и 55,4-61,5% у лисиц) по октябрь (64,3-83,3% у песцов и 61,5-87,7 у лисиц) и их щенки с июня (42,1-47,4% у песцов и 36,1-55,5% у лисиц) по ноябрь у обоих видов у животных всех возрастов (100%).

Среди 240 обследованных норок у 82 животных были обнаружены блохи рода *Stenoccephalides* (ЭИ– 34,16%). У 68,75% (165 норок) были выявлены патологические изменения в виде атопического дерматита, сопровождающегося зудом и эритемой кожного покрова. Среди 25% (60-ти обследованных норок) были выявлены поредение шерсти в местах расчесов. У 6,25% пораженных животных не было обнаружено патологических изменений, но было выявлено наличие эктопаразитов.

## 2

.

Эпизоотическая ситуация по эймериидозам в различных регионах страны отличается и в ряде областей требует дополнительного изучения [4, 63, 74, 109, 146].

### **Эпизоотическая ситуация по эймериидозам в звероводческих хозяйствах в Северо-Западном регионе РФ**

Обследовав шесть ферм по выращиванию норок в Северо-Западном регионе Российской Федерации было установлено у норок (*Neovison vison*, Schreber, 1777) паразитирование двух видов эймерий – *E. vison* и *E. furonis* и два – изоспор – *I. laidlawi* и *I. eversmanni*. Из 6118 исследованных норок зараженными оказались 2687, экстенсивность инвазии (ЭИ) составила 43,92% (Таблица 2.2.2.1).

Таблица 2.2.2.1 – Экстенсивность инвазии норок эймеридами в зверохозяйствах Северо-Западного региона РФ

Виды эймерий и изоспор	Кол-во обследованных животных	Зараженные	ЭИ, %
<i>E. vison</i>	<b>6118</b>	869	14,20
<i>E. furonis</i>	<b>6118</b>	48	0,78
<b>Итого эймерий</b>	<b>6118</b>	<b>917</b>	<b>14,99</b>
<i>I. laidlawi</i>	<b>6118</b>	1356	22,16
<i>I. eversmanni</i>	<b>6118</b>	3	0,05
<b>Итого изоспор</b>	<b>6118</b>	1359	<b>22,21</b>
<b>Итого моноинвазий:</b>	<b>6118</b>	2276	<b>37,20</b>
<i>E. vison</i> + <i>E. furonis</i>	<b>6118</b>	34	0,56
<i>E. vison</i> + <i>I. laidlawi</i>	<b>6118</b>	294	4,81
<i>E. vison</i> + <i>I. eversmanni</i>	<b>6118</b>	2	0,03
<i>E. furonis</i> + <i>I. laidlawi</i>	<b>6118</b>	34	0,56
<i>E. furonis</i> + <i>I. eversmanni</i>	<b>6118</b>	1	0,02
<i>I. laidlawi</i> + <i>I. eversmanni</i>	<b>6118</b>	11	0,18
<b>Микстинвазия двумя паразитами:</b>	<b>6118</b>	<b>376</b>	<b>6,15</b>
<i>E. vison</i> + <i>I. laidlawi</i> + <i>I. eversmanni</i>	<b>6118</b>	4	0,07
<i>E. vison</i> + <i>E. furonis</i> + <i>I. laidlawi</i>	<b>6118</b>	31	0,51
<b>Микстинвазия тремя паразитами:</b>	<b>6118</b>	35	0,57
<b>ИТОГО:</b>	<b>6118</b>	<b>2687</b>	<b>43,92</b>

Во всех зверохозяйствах эймериидозы чаще протекали в виде моноинвазий (37,2%), микстинвазия двух паразитов встречалась в 6,15%, а микстинвазия тремя простейшими зарегистрирована лишь в 0,57% случаев. Самым распространенным среди моноинвазий видом эймериид в большинстве звероводческих хозяйствах на территории Северо-Западного региона оказался вид изоспор – *I. laidlawi*. ЭИ этим паразитом составила 22,16% от числа обследованных зверей. На втором месте по встречаемости стоит вид *E. vison* (14,2%), при этом изоспоры встречаются на 7,2% чаще, чем эймерии.

Вид *E. furonis* был обнаружен лишь в двух звероводческих хозяйствах, одно располагается в Ленинградской, другое – в Калининградской области, ЭИ составила 0,78%. Изоспороз, вызванный *I. eversmanni* (ЭИ – 0,05%), зарегистрирован нами лишь в одном зверохозяйстве на территории Калининградской области. Возбудитель был обнаружен в данном регионе

впервые и только у животных, завезенных из хозяйств Ставропольского края. Ранее этот вид изоспоры находили у норок в Казахстане и Белоруссии в 1956 и 2006 годах, соответственно.

Среди всех заболевших животных ЭИ *I. laidlawi* составляет больше половины – 50,5%, *E. vison* – 32,3%, ассоциация этих двух простейших на третьем месте – 10,9%, остальные виды паразитов и их ассоциации встречаются гораздо реже (Рисунок 2.2.2.1).

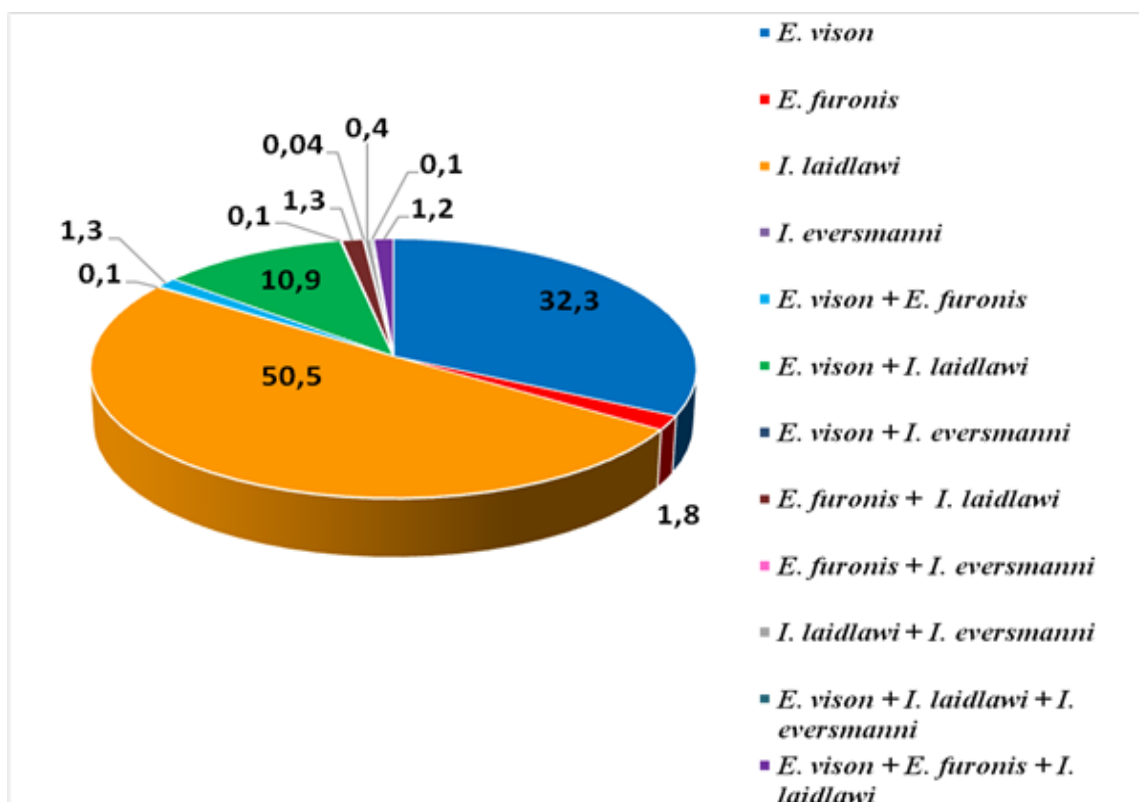


Рисунок 2.2.2.1 – Видовой состав эймериидозов в зверохозяйствах Северо-Западного региона РФ

Анализ проведенных ранее исследований [109, 120] и полученные новые данные указывают на то, что видовой состав эймериид связан с возрастом зверьков, но не зависит от типовой окраски норок.

### **2.2.2.1 Источники и факторы передачи инвазии в звероводческих хозяйствах**

Инвазионные болезни имеют широкое распространение во всех обследованных нами зверохозяйствах, как в Ленинградской, так и в Калининградской областях. Однако ветеринарные специалисты на местах редко уделяют должное внимание болезням, вызываемые протозоозами и не регистрируют их в ветеринарной отчетности. Симптомы, вызванные паразитами (нарушения функции желудочно-кишечного тракта, диарея, истощение, отставание в росте и развитии), приводят к снижению сопротивляемости организма к внешним факторам. Чаще всего перечисленные симптомы списывают на отравления, энтероколиты из-за некачественных кормов или погрешности в кормлении животных. А тем временем, наличие и распространенность эймериид на зверофермах, является показателем ветеринарно-санитарного благополучия хозяйства. Отсутствие своевременной диагностики и высокая концентрация пушных животных на ограниченной территории, – эти факторы одни из основных, но не единственные, влияющие на передачу инвазионных и инфекционных болезней в звероводческих хозяйствах. В данном разделе мы описываем наиболее часто встречающиеся источники и факторы, способствующие распространению инвазии среди пушных зверей, выявленные в зверохозяйствах Северо-Западного региона. Это крайне важно, так как загрязняя окружающую среду фекальными массами, в которых есть расселительные стадии (ооцисты), способствующие заражению здоровых животных и распространению паразитов по территории ферм.

Для изучения распространения эймериид нами проведены обследования в 6 норководческих зверохозяйствах (Таблица 2.2.2.1.1).

Материал представленный в таблице 2.2.2.1.1 опубликованы в статье «Распространение кишечных паразитов среди пушных зверей» [114].

Таблица 2.2.2.1.1 – Распространение эймериид норок по тест-объектам в окружающей среде на территории зверохозяйств [114]

Наименование тест-объекта	Всего исследовано проб	Из них выявлено							
		Положительных проб		Интенсивность инвазии					
				от 1 до 20 ооцист		от 21 до 50 ооцист		более 50 ооцист	
		<i>шт.</i>	<b>%</b>	<i>проб</i>	<b>%</b>	<i>проб</i>	<b>%</b>	<i>проб</i>	<b>%</b>
Пробы почвы из-под шедов	60	60	<b>100</b>	6	<b>10,0</b>	42	<b>70,0</b>	12	<b>20,0</b>
Смывы, соскобы со скребков и инвентаря	20	20	<b>100</b>	16	<b>80,0</b>	3	<b>15,0</b>	1	<b>5,0</b>
Соскобы с пола домиков	35	16	<b>45,7</b>	6	<b>37,5</b>	9	<b>56,3</b>	1	<b>6,25</b>
Смывы с кормушек	35	13	<b>37,1</b>	9	<b>69,2</b>	4	<b>30,8</b>	0	<b>0</b>
Смывы с поилок	35	6	<b>17,1</b>	6	<b>100,0</b>	0	<b>0</b>	0	<b>0</b>
Смывы с лап норок	35	11	<b>31,4</b>	11	<b>100,0</b>	0	<b>0</b>	0	<b>0</b>
Соскобы и смывы с клеток	56	21	<b>37,5</b>	15	<b>71,4</b>	6	<b>28,6</b>	0	<b>0</b>
Талая вода	12*	4	<b>33,3</b>	4	<b>100,0</b>	0	<b>0</b>	0	<b>0</b>

\*пробы снега из-под шедов отбирались только в одном зверохозяйстве - Лужском р-не Ленинградской области.



В результате проведенных исследований во всех обследованных тест-объектах были обнаружены ооцисты, которые относились к трем видам эймериид – *E. vision* (68,7%), *I. laidlawi* (25,5%) и *E. furonis* (5,8%).

Наибольшее количество ооцист обнаружено в пробах почвы, собранных из-под шедов: во всех 60 пробах были найдены эймерииды (ЭИ 100%), при этом ИИ зависела от степени загрязненности почвы фекальными массами. Так, в 12 пробах (20%), количество ооцист было больше 50 в п.з.м., в 42 пробах (70%) колебалось в пределах от 21 до 50 ооцист, в 6 (10%) – от 1 до 20 ооцист в п.з.м. В данных пробах большая часть (80%) ооцист были спорулированные. На втором месте по загрязненности тест-объектов оказались смывы и соскобы со скребков и инвентаря, используемого для уборки за животными (ЭИ 100%), однако ИИ была гораздо ниже, лишь в одной пробе количество ооцист оказалось больше 50 в п.з.м. (5%), от 21 до 50 ооцист – в 3 пробах, 16 проб содержали от 1 до 21 ооцисты. Высокая ЭИ была в пробах с полов домиков (45,7%). ЭИ в пробах с кормушек и с сетки выгульной площадки оказалась примерно на одинаковом уровне 37,1 и 37,5%, соответственно. Это объясняется тем, что эти объекты располагаются рядом с друг другом, поэтому разница находится в пределах статистической погрешности. Высокая ЭИ 31,4% была выявлена в смывах с лап норок, ИИ при этом была в пределах от 1 до 21 ооцисты, в 11 пробах из 35.

Важную роль в перезимовке возбудителей играет снег который весной тает и образуются ручейки талой воды, в которой также находятся ооцисты кокцидий. Проведенные нами ранее исследования показали [109], что ооцисты могут перезимовывать в окружающей среде, после чего способны к заражению. При исследовании 35 смывов с поилок в 6 были выявлены ооцисты кокцидий, что составляет 17,1%. Это связано с тем, что вода ежедневно обновляется и ооцисты смываются с поверхности мисок. Поэтому данный тест-объект наименее вероятен в качестве перезаражения норок в условиях зверохозяйства. Тем не менее, для организации профилактических

мероприятий против эймериидозов пушных зверей, в частности норок, необходимо учитывать все возможные источники и факторы передачи инвазии.

Результаты распространения эймериид норок по тест-объектам во внешней среде, приведены на рисунке 2.2.2.1.1.

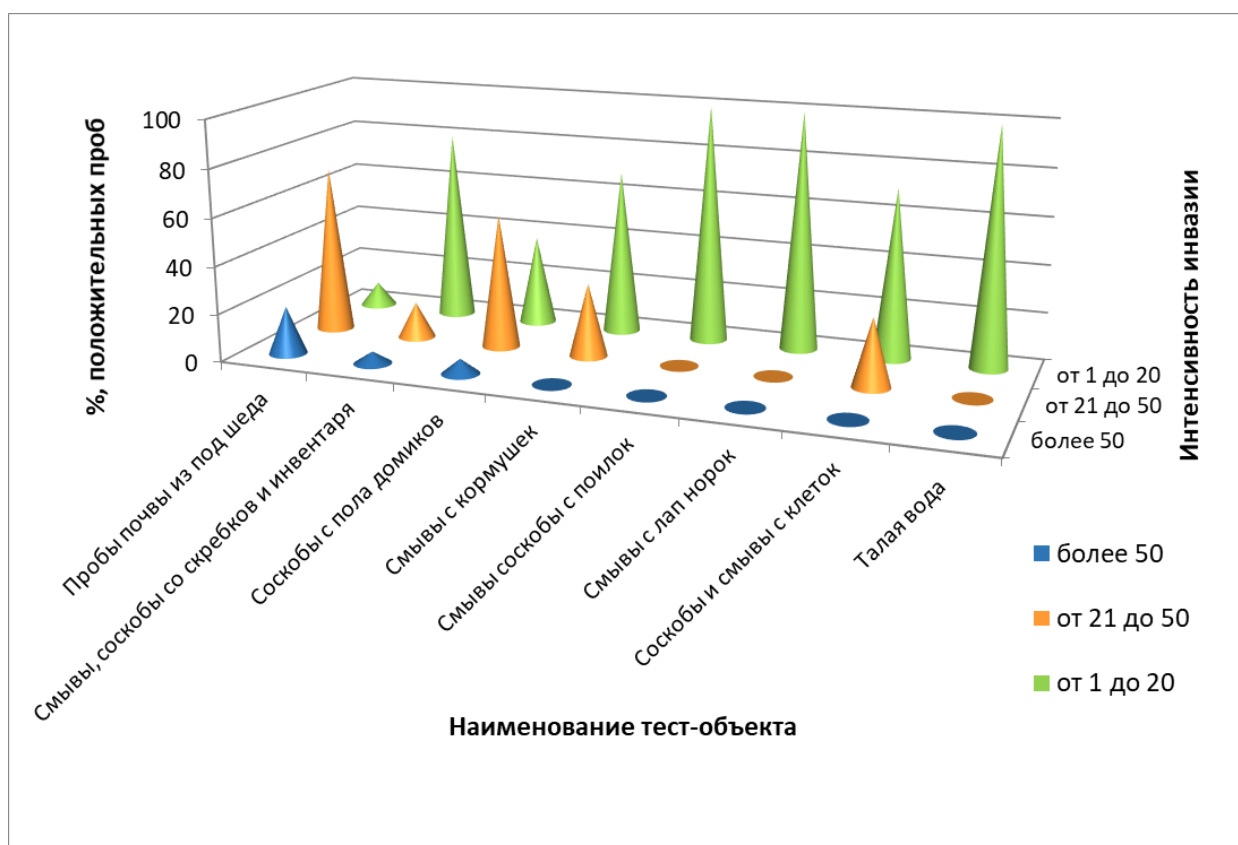


Рисунок 2.2.2.1.1 – Распространение эймериид норок по тест-объектам в окружающей среде

Полученные результаты обследования песчовых шедов показали, что ооцисты эймериид, а также яйца гельминтов обнаружены на всех тест-объектах, но степень их контаминации была также разной (Таблица 2.2.2.1.2).

Таблица 2.2.2.1.2 – Распространение возбудителей паразитозов песцов и лисиц по тест-объектам внешней среды в зверохозяйствах

Виды паразитов	Кол-во объектов, шт/%	Почва из-под шедов, шт/%	Сетка выгульной площадки, шт/%	Кормовые столики, шт/%	Поилки, шт/%	Смывы с лап, шт/%
Ооцисты кокцидий	128/100	45/35,1	18/14	12/9,3	0/0	6/4,6
Яйца гельминтов		54/42,1	9/7	8/6,2	0/0	5/3,9
Личинки нематод		4/3,1	0/0	0/0	0/0	0/0
Клещи и яйца		6/4,6	0/0	0/0	0/0	11/8,6

На песцовых и лисьих фермах контаминация внешней среды характеризуется наличием эндо- и эктопаразитов на различных тест-объектах, встречающихся на звероферме. Так, наибольшее количество яиц *T. leonina* и *T. canis* было обнаружено в 54 из 128 проб почвы из-под шедов (42,1%), ооцисты *I. vulpina* и *I. buriatica* в 45 пробах (35,1%), личинки свободноживущих нематод (*Strongyloides spp.*) в 4-х пробах (3,1%), а также различные клещи и яйца клещей, которые были определены, как *Tyroglyphoidea* и *O. cynotis* в 6 пробах почвы (4,6%) (Захваткин А.А., 1941). Причем последние клещи при исследовании смывов лап песцов и лисиц чаще оказывались в абиотическом состоянии (в 11 пробах, что составляет 8,6%), реже встречались ооцисты простейших и яйца гельминтов в 6 (4,6%) и 5 (3,9%) пробах, соответственно. Ооцисты и яйца гельминтов были обнаружены в смывах с решеток выгульных площадок и кормовых столиков (ЭИ ооцистами – 14 и 9,3%, а яйцами гельминтов – 7 и 6,2%, соответственно). При исследовании смывов с поилок песцов и лисиц, возбудителей паразитозов

обнаружено не было. Тем не менее санитарно-гигиеническое состояние внутри шеда было не удовлетворительным (Рисунок 2.2.2.1.2).



Рисунок 2.2.2.1.2 – Проход внутри песцового шеда (оригинал)

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод, что источниками инвазии на зверофермах являются больные животные, а также паразитоносители, а наиболее опасными объектами внешней среды, способствующими распространению эймериидозов и нематодозов, являются фекальные массы, загрязняющие почву под клетками, скребки и инвентарь для уборки, сетка выгульных площадок, кормовые столики, лапы животных и их поилки. ЭИ этих объектов и количество самих паразитов зависит от ветеринарно-санитарного благополучия зверохозяйства.

Важную роль в распространении паразитов на территории звероводческих ферм играют и другие источники такие, как, например, синантропные животные (птицы, безнадзорные кошки, сторожевые собаки), насекомые и прочие факторы. Нарушения ветеринарно-санитарных правил были отмечены нами на всех фермах. Большое количество пищи привлекает синантропных птиц, из которых особый вред наносят такие виды, как большая

сизая чайка *Larus canus*, (Linnaeus, 1758), озерная чайка *Chroicocephalus ridibundus* (Linnaeus, 1766), серая ворона *Corvus cornix* (Linnaeus, 1758) и в более южных районах белый аист *Ciconia ciconia* (Linnaeus, 1758) (Рисунок 2.2.2.1.3 и 2.2.2.1.4).



Рисунок 2.2.2.1.3 – Стаи чаек над шедами с пушными зверями (оригинал)



Рисунок 2.2.2.1.4 – Стая аистов на территории зверофермы (оригинал)

Их присутствие на фермах ведет к увеличению конверсии корма, предназначенного для пушных зверей, что приводит к недополучению животными необходимых питательных веществ и отставанию в росте и

развитии, а также экономическим потерям зверохозяйств. Кроме этого, птицы могут быть распространителями различных заразных болезней. По нашим оценкам, количество чаек различных видов может достигать до нескольких тысяч особей, которые на постоянной основе находятся на территории звероферм. В природе пищей аистов являются лягушки, головастики, крупные кузнечики, ящерицы, мелкие млекопитающие, такие как: мыши, полевки и т.д., но в условиях звероводческих предприятий они могут нападать на молодняк норок.

Еще одной проблемой звероводческих хозяйств на территории Северо-Западного региона РФ являются насекомые. Несвоевременное удаление фекальных масс из под шедов и отсутствие профилактических мероприятий приводит к выводу мух различных видов, а также блох на территории звероферм.



Рисунок 2.2.2.1.5 – Личинки мух (опырыши) на поверхности фекальных масс в проходе норочьего шедра (оригинал)





Рисунок 2.2.2.1.6 – Взрослая стадия (имаго) мух на поверхности шеда с норками (оригинал)

Мухи могут быть механическими переносчиками ооцист кокцидий, яиц гельминтов и причиной распространения разных заразных болезней. С целью установления роли насекомых в распространении инвазий был поставлен эксперимент в одном из зверохозяйств. Для этого были отобраны 100 зоофильных мух, которых измельчили в керамической ступке при помощи пестика с добавлением флотационной жидкости, после чего центрифугировали 5 минут при 1500 об./мин. Затем надосадочная пленка с помощью паразитологической петли переносилась на предметное стекло и покрывалась покровным. В результате данного эксперимента удалось обнаружить 8 неспорулированных ооцист, шесть из которых оказались *E. vison*, а две – *I. laidlawi*.

Блохи – это временные паразиты на теле пушных зверей и в теплое время года причиняют беспокойство животным и людям. Данные насекомые с широкой видоспецифичностью, поэтому питаются кровью не только норки и

песцов, но и обслуживающего персонала на фермах. На одной норке одновременно удавалось найти при помощи специального гребня до 25 блох одновременно. Объем желудка блохи, согласно литературным данным [65, 87], составляет примерно 0,5мл, в то же время при питании кровью, желудок способен вместить объем крови в 10-20 раз больше. Блоха не способна переварить весь объем поглощенной крови, поэтому часть ее отрывается блохой, что загрязняет шерсть. Это сказывается на качестве получаемого меха от животного. Причиной огромного количества блох на территории звероферм как в Ленинградской, так и в Калининградской областях, по мнению сотрудников этих ферм, является завоз блох вместе с племенными животными из-за границы, т.к. в предыдущие годы наблюдений такого количества насекомых не наблюдалось. Возможно, что наряду с этой причиной, важную роль играет изменение климата, т.к. по нашим наблюдениям в жаркие и дождливые летние месяцы (погода наиболее благоприятна для размножения этих насекомых) одна самка способна проделать 5-6 полных гонотрофических циклов, а обилие органических остатков под шедами создает идеальные условия для созревания личинок блох в окружающей среде.

Помимо внешних факторов, перечисленных выше, есть и внутренние. Например, наличие безнадзорных кошек и служебных собак на территории ферм со свободным доступом в шеды и непосредственно к пушным зверям.

Кормокухня в зверохозяйстве привлекает мышей и крыс, поэтому сотрудники приносят кошек на ферму для борьбы с грызунами, в следствие чего популяция кошек в зверохозяйстве растет (Рисунок 2.2.2.1.7).





Рисунок 2.2.2.1.7 – Бездзорные котята живут под развалинами старого шеда на территории зверохозяйства (оригинал)

Кошки и собаки могут представлять опасность для пушных зверей, так как ряд заразных болезней, является для них общими. Бесконтрольный доступ животных на территорию звероферм и непосредственно в шеды представляет угрозу для благополучия пушных зверей. Тем не менее, служебные собаки, количество которых в некоторых хозяйствах доходит до 20, охраняющие территорию фермы от посторонних, имеют свободный доступ в шеды и непосредственно к животным (Рисунок 2.2.2.1.8).



Рисунок 2.2.2.1.8 – Служебная собака без привязи у входа в шед (оригинал)

Важным вопросом остается организация кормления пушных зверей, системы содержания норок, песцов и лисиц, которые не совершенствовались почти 90 лет. На сегодняшний день для того, чтобы мешанка не проваливалась через крупные ячейки в сетчатом полу клетки, корм кладут на специальную дощечку («кормовой столик») (Рисунок 2.2.2.1.9).



Рисунок 2.2.2.1.9 – Песец в стандартной клетке на выгульной площадке во время раздачи корма (оригинал)

Как указывалось ранее, в соскобах и смывах с решеток клеток, кормового столика, мисок и лап животных во всех обследованных нами хозяйствах были обнаружены ооцисты эймериид и яйца гельминтов. Данный способ кормораздачи также может являться источником перезаражения животных на территории звероферм.

Помимо этого, в зверохозяйствах редко, но все же пренебрегают правилом отдельного содержания взрослых животных и молодняка, иногда это неизбежно, во время щенения животных и выкармливания молоком щенков (Рисунок 2.2.2.1.10).



Рисунок 2.2.2.1.10 – Самка черно-бурой лисицы в клетке со щенками

Щенки могут заразиться токсокарозом от самки внутриутробно и трансмаммилярно, а также другими инвазионными болезнями (эймериидозами, токсаскариозом) перорально, т.к. фекальные массы могут попадать на соски. Молодняк пушных зверей более подвержен инвазионным болезням, в частности протозоозам, поэтому рекомендуется содержать животных текущего года рождения отдельно от животных старшего возраста и племенных животных, однако не всегда это соблюдается на зверофермах. Для предотвращения инбридинга иногда скрещивают животных разных возрастов (Рисунок 2.2.2.1.11). Это также может способствовать распространению инвазионных болезней в звероводческих хозяйствах.



Рисунок 2.2.2.1.11 – Разновозрастные норки содержатся в одной клетке

(оригинал)

Обслуживающий персонал на территории зверофермы также является источником распространения инвазионных болезней. Яйца гельминтов и ооцисты простейших могут переноситься с одной бригады на другую на поверхности рабочей одежды, обуви, а также при несоблюдении дезинфекции, дезинвазии рабочего инвентаря, что также было установлено в ходе проведения отбора проб с их поверхности. Важно помнить, что ряд паразитарных болезней является зоонозными, поэтому необходимо вести просветительскую работу среди работников ферм по профилактике заражения от животных.



Рисунок 2.2.2.1.12 – Отбор проб в звероводческом хозяйстве с соблюдением мер предосторожности (одноразовый халат, бахилы, латексные перчатки) (оригинал)

Таким образом, важнейшую роль в распространении паразитарных болезней в эпизоотологии и эпидемиологии зоонозов, наряду с зараженными животными и паразитоносителями, играют синантропные животные, обитающие в населенных пунктах и вокруг них, а также в помещениях (жилье, складские помещения, шеды для животных, кормокухня, места временного складирования пищевых продуктов, кормов). Зверохозяйства, наряду с другими небольшими охраняемыми территориями, обеспечивают условия для сохранения определенных видов паразитозов на данной территории и постоянной их циркуляции между пушными зверями и объектами внешней среды. При этом важно понимать, что возбудители инвазионных болезней



могут неопределенно долгое время циркулировать среди диких животных и птиц, без участия животных, находящихся на территории обитания человека. Несмотря на то, что шедовое содержание пушных зверей в клетках с приподнятыми сетчатыми полами привело к девакации, т.е. разрыву эпизоотической цепи между пушными зверями и значительным количеством различных видов паразитов, тем не менее, все попытки ветврачей и ученых ликвидировать инвазионные болезни оказываются неудачными. Данная проблема не может быть решена полностью, так как паразиты адаптируются к новым условиям, поэтому нам удастся лишь удерживать распространение паразитарных болезней. В связи с этим, мы рекомендуем следующие мероприятия:

1. Необходимо правильно отводить место под строительство новых ферм и зверохозяйств вдали от населенных пунктов и свалок, отпугивать синантропных животных и птиц от территории хозяйств специальными устройствами, издающими звуки хищных птиц, пугалами и сетками.
2. Необходимо регулярно и тщательно проводить санитарную обработку территории всего зверохозяйства. Не реже одного раза в квартал убирать фекальные массы из-под шедов, проводить мойку шедов аппаратом высокого давления, а также чистку клеток, домиков, кормушек и поилок. Перед перемещением животных в новую клетку обязательно обрабатывать клетки при помощи паяльной лампы, а домики тщательно мыть мыльными дезинфицирующими растворами.
3. При входе в каждый шед должны лежать специальные дезинфицирующие маты (дезковрики).
4. Категорически не допускать на территорию хозяйств безнадзорных и диких животных, при этом служебные собаки должны находиться в специальных вольерах, без возможности свободного перемещения по ферме.
5. Регулярные профилактические дегельминтизации не только пушных зверей и сторожевых собак, но и диких, синантропных животных, при помощи

специальных приманок с антигельминтиками позволят обеспечить более полную профилактику паразитарных болезней в зверохозяйствах и поблизости с ними.

6. Для уменьшения количества насекомых (мух, блох) в звероводческих хозяйствах мы рекомендуем регулярную уборку фекальных масс в специальные траншеи для дальнейшей биотермической обработки их на достаточном отдалении от основной территории ферм, а также обработку инсектоакарицидными средствами земли под шедами, при помощи ручных опрыскивателей с такими растворами, как фипронил, перметрин, диазинон. Возможно применение средств, отпугивающих насекомых или наоборот приманок с отравками для них.

7. За 14 дней перед гоном, всех взрослых песцов и лисиц обоих полов необходимо дегельминтизировать против круглых червей препаратами из группы макроциклические лактоны, а во время беременности (при необходимости) с применением препаратов на основе ДВ Фенбендазол, обладающим наименьшими побочными эффектами для беременных и лактирующих животных. При применении этих препаратов необходимо соблюдать меры предосторожности и продумать целесообразность проведения данных мероприятий.

8. Важно комплектовать маточное поголовье животными одного возраста, при этом следует избегать близкородственного скрещивания, не допускать совместного содержания в одной клетке животных разного возраста.

9. Регулярно проводить во всех зверохозяйствах мероприятия по дератизации, дезинсекции, дезинсекции и дезинвазии объектов на территории ферм.

10. Не допускать нахождения посторонних лиц на ферме, а обслуживающего персонала (бригадиров, зоотехников, звероводов и ветврачей) без специальных одноразовых халатов и средств индивидуальной защиты.

### 2.2.2.2 Сезонная и возрастная динамика кишечных паразитозов пушных зверей в Ленинградской и Калининградской областях

Результаты текущего этапа исследования частично опубликованы в статье «Особенности диагностики и патоморфологии эймериидозов норок в зверохозяйствах Северо-Западного региона Российской Федерации» [100].

Изучение сезонности эймериидозно-изоспорозной инвазии у норок проведено в двух регионах РФ в Ленинградской и Калининградской областях. Биология развития данных паразитов тесно связана с погодно-климатическими изменениями природного происхождения, поэтому имеются закономерности в сезонности возникновения и распространения инвазии. Изучение данного вопроса представляет, как теоретический, так и практический интерес для норководческих зверохозяйств. Выявление закономерностей сезонности возникновения тех или иных инвазионных болезней является важным звеном для прогнозирования эпизоотической ситуации и разработки лечебно-профилактических мероприятий.

Исследования показали, что сезонная динамика выделения эймерий и изоспор имеет четко выраженный характер, а также имеет зависимость от пола и возраста зверьков. При этом она немного, но отличается друг от друга в разных регионах (Таблица 2.2.2.2.1 и 2.2.2.2.2).

Таблица 2.2.2.2.1 – Сезонная динамика инвазированности норок эймериидозами в Ленинградской области

Сезон года	Молодняк норок			Взрослые норки		
	Кол-во обследованных	Кол-во зараженных	% зараженных	Кол-во обследованных	Кол-во зараженных	% зараженных
<b>Весна</b>	150	57	38,0	120	37	30,8
<b>Лето</b>	150	76	50,7	120	52	43,3
<b>Осень</b>	150	54	36,0	120	29	24,2
<b>Зима</b>	150	19	12,7	120	19	15,8
<b>Итого</b>	<b>600</b>	<b>206</b>	<b>34,3</b>	<b>480</b>	<b>137</b>	<b>28,5</b>

В разное время года в зверохозяйстве Ленинградской области, было обследовано 1080 животных с целью уточнения сезонной и возрастной динамики эймериидозов норок. Из них 480 проб фекальных масс были отобраны от взрослых животных (самцы и самки из основного и племенного стада), и 600 проб от молодых животных в возрасте от 13-ти дней до 1 года, среди взрослых норок зараженными эймериидами оказалось 137 голов, ЭИ составила 28,5%, а у молодняка – 206 зверьков, ЭИ составила 34,3%.

При этом характерным оказалось то, что в течение всего года за исключением зимы, ЭИ у молодых животных была выше, чем у взрослых. В зимний период зараженность молодняка от числа обследованных составила 12,7%, а у взрослых – 15,8%.

Пик инвазии и у молодняка норок, и у взрослых животных пришелся на лето. Процент зараженного молодняка доходил до 50,7%, а взрослого поголовья – 43,3%.

Весной и осенью ЭИ молодняка эймериидами остается примерно на одинаковом уровне – 38,0 и 36,0%, соответственно. В эти периоды у взрослых животных зараженность была на уровне 30,8 и 24,2%.

Простейшие выделяются из организма с определенной периодичностью, и это зависит от вида паразита, условий внутренней среды организма и внешних факторов, поэтому ИИ также отличалась от сезона к сезону. Была прослежена определенная закономерность в периодах выделения ооцист от норок разного возраста в зверохозяйстве Ленинградской области. Так у взрослых животных, чем выше была ЭИ, тем ИИ в этот же период была ниже. В летнюю декаду ИИ у самок снижалась до 2-58 ооцист в одной пробе, у самцов – до 1-10 ооцист. В осенне-зимнее время ИИ возрастала у самок до 480 ооцист в одной пробе, а у самцов – до 240 шт. в пробе. Весной данный показатель у самок снижался до уровня 1-180, а у самцов – до 1-12 ооцист в одной пробе. У молодняка норок ИИ доходила до 280 ооцист в одной пробе.



Молодняк, судя по литературным данным, более подвержен эймериидозной инвазии, поэтому нам было интересно проследить динамику развития данной паразитарной болезни в Ленинградской области и сравнить ее с таковой в Калининградской области, где гон у норок проходит раньше.

Впервые в ходе проведенных лабораторных исследований удалось выявить у 6-ти больных щенков норок, начиная с 13 дневного возраста, единичные ооцисты эймерий (ЭИ составила 12%). Нами установлено, что пик инвазии среди молодняка приходится на двухмесячный возраст (июнь-июль). В этот период количество зараженных среди щенков доходило до 30 из 50 обследованных животных, ЭИ составила 60%. Мы связываем такой подъем инвазии у молодняка, с тем, что по мере отъема щенков (на 42-43 сутки после рождения) от кормящих самок на фоне стресса ЭИ резко повышается. Достигнув пика, ЭИ постепенно начинала снижаться и в августе составляла 56%, в сентябре – 50%. В зимний период количество 7-9 мес. больных зверьков снижается до минимума, (ЭИ в феврале всего 6), т.е. в 10 раз по сравнению с июлем. Таким образом к 7-9 месяцам у молодняка норок образуется иммунитет, развивающийся под воздействием клеточных и гуморальных факторов, напряженность его зависит от вида возбудителя, физиологического состояния пушных зверей.

В 10 и 11 месячном возрасте мы наблюдали резкий подъем инвазии, в среднем до 46-56%, от числа обследованного молодняка, что мы связываем с изменением в условиях кормления и содержания животных, а также рассадки животных по группам и закреплением самок за самцами (Рисунок 2.2.2.2.1 и 2.2.2.2.2).

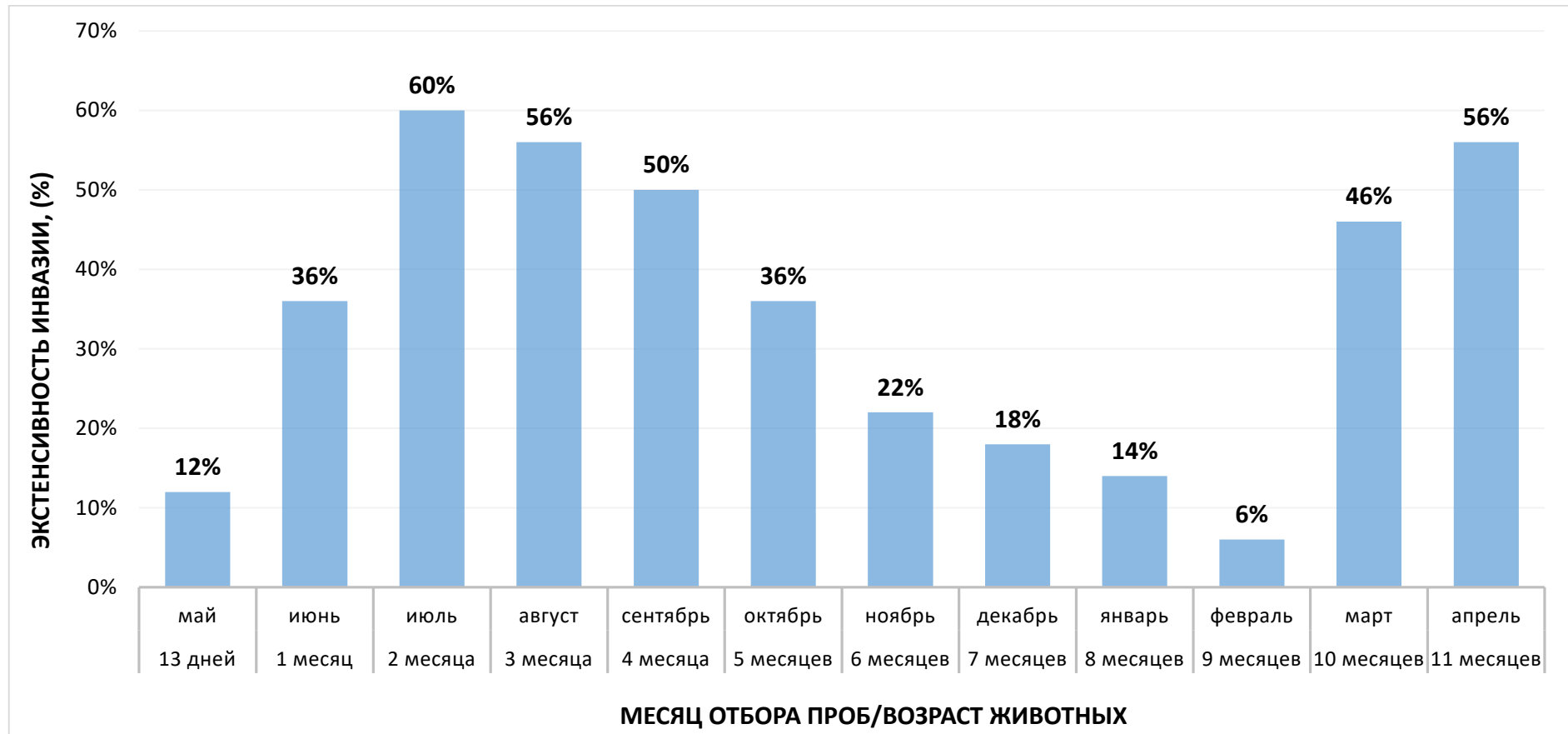


Рисунок 2.2.2.2.1 – Возрастная динамика эймериидозной инвазии молодняка норок в зверохозяйстве Ленинградской области

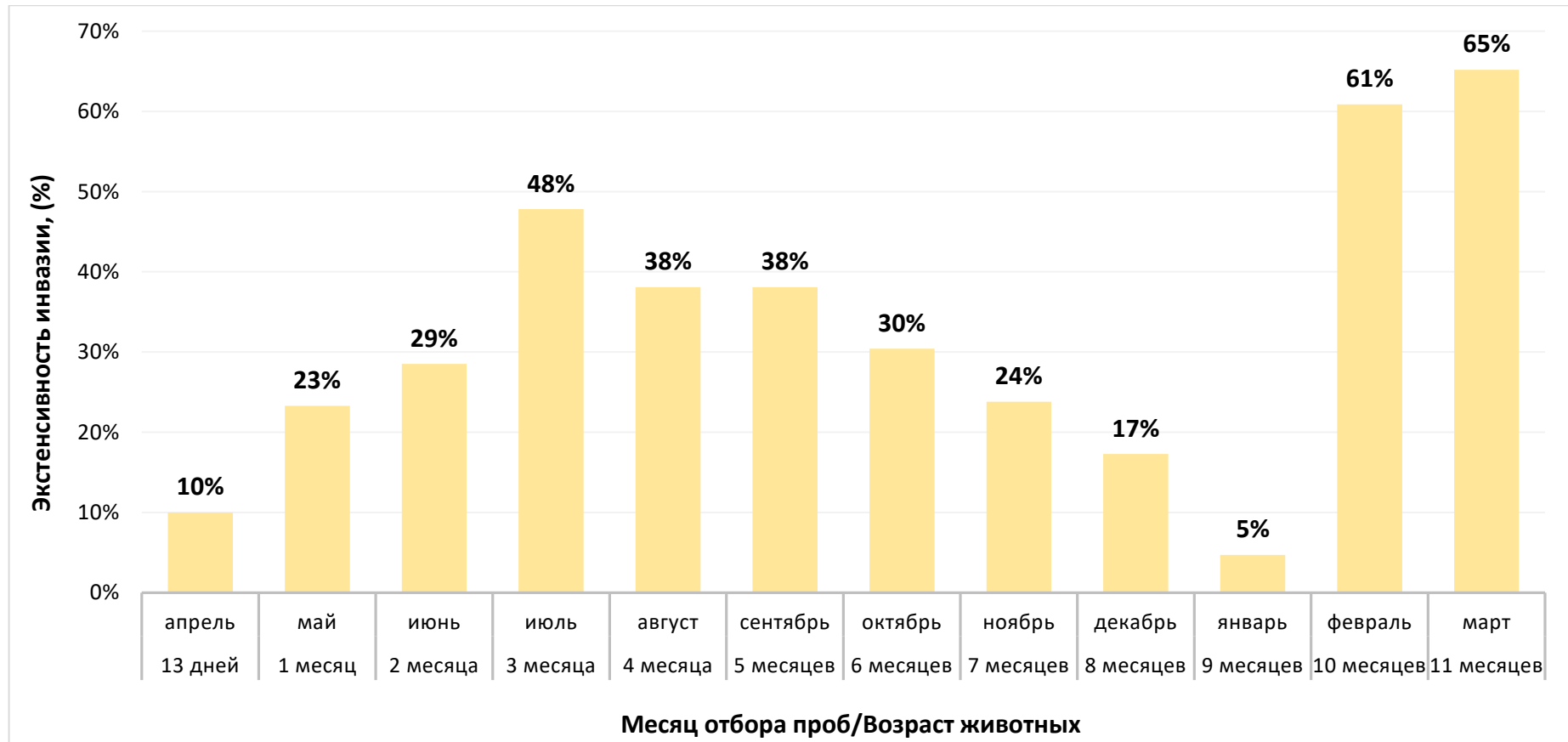


Рисунок 2.2.2.2.2 – Возрастная динамика эймериидозной инвазии молодняка норок в зверохозяйстве Калининградской области

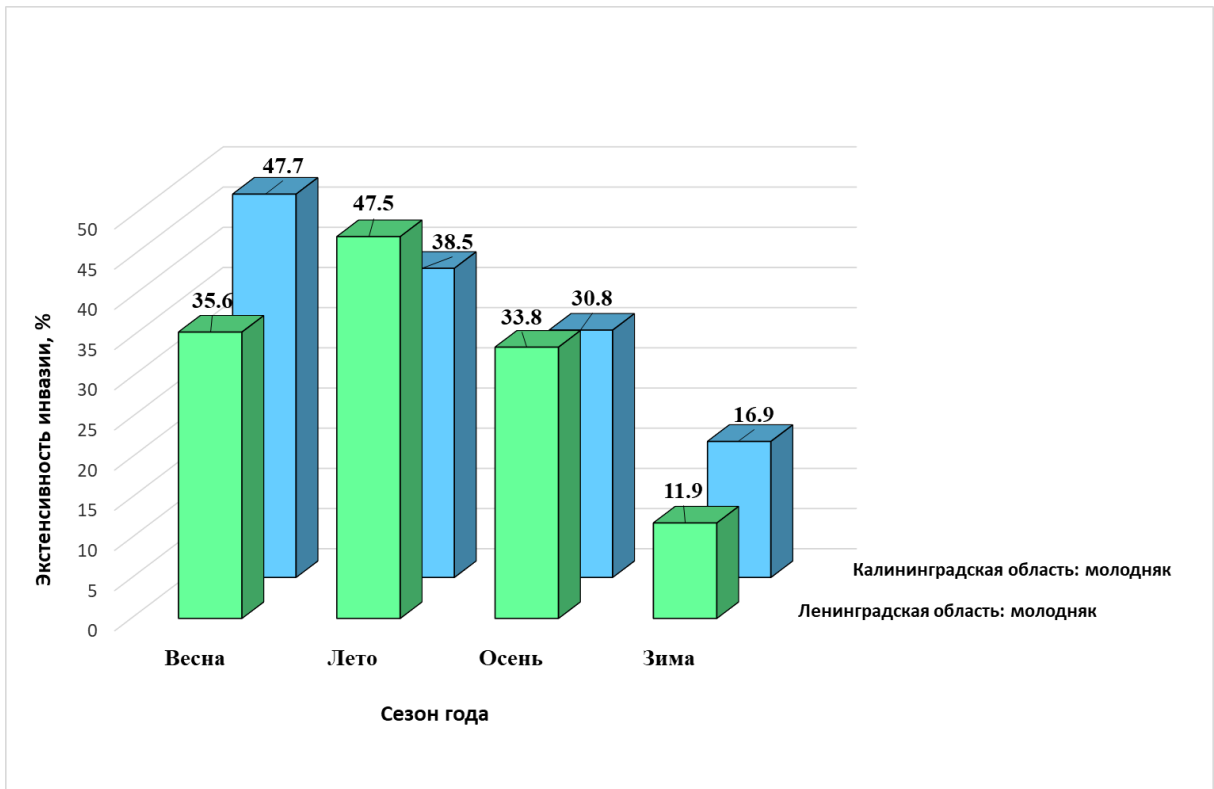


Рисунок 2.2.2.2.3 – Сезонная динамика инвазированности молодняка норок в разных регионах РФ

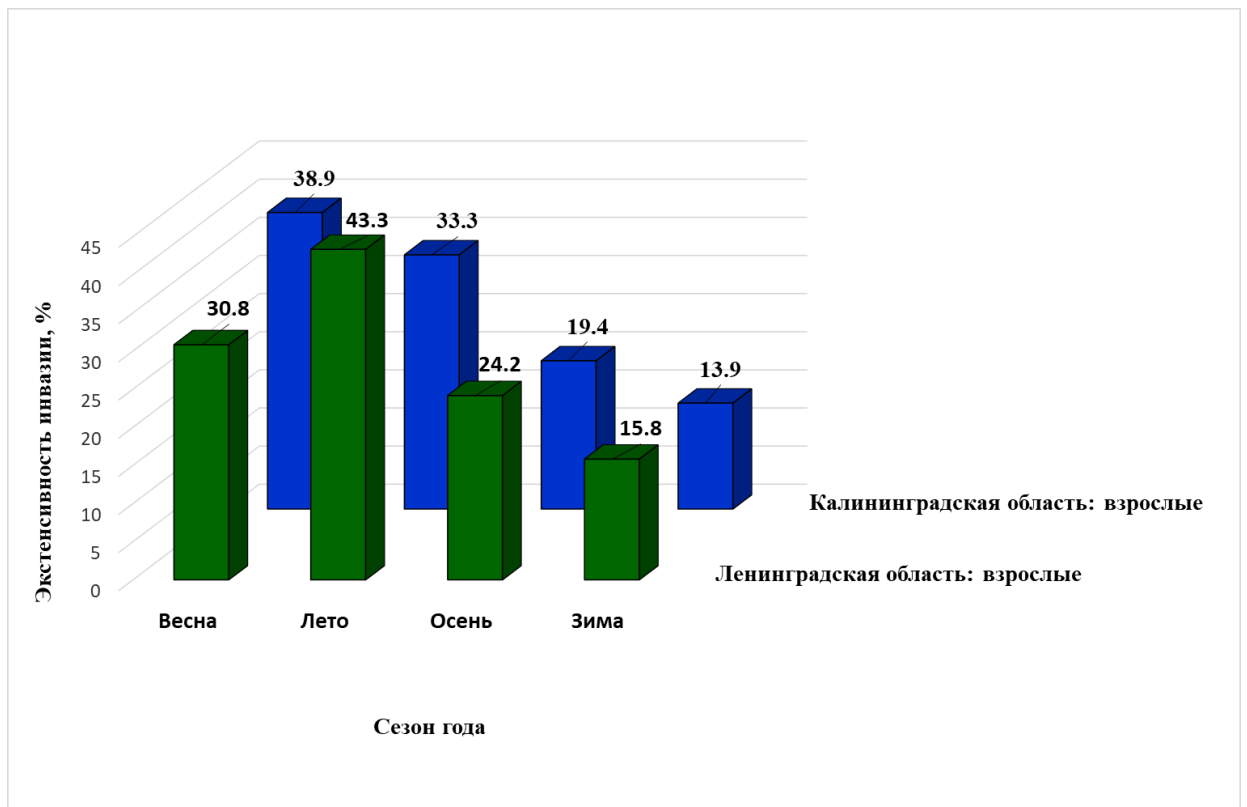


Рисунок 2.2.2.2.4 – Сезонная динамика инвазированности взрослых норок в разных регионах РФ

Результаты сезонной динамики эймериидозов норок в зверохозяйстве Калининградской области представлены в таблице 2.2.2.2.2.

Таблица 2.2.2.2.2 – Сезонная динамика инвазированности норок эймериидозами в Калининградской области

Сезон года	Молодняк норок			Взрослые норки		
	Кол-во обследованных	Кол-во зараженных	% зараженных	Кол-во обследованных	Кол-во зараженных	% зараженных
<b>Весна</b>	65	31	47,7	36	14	38,9
<b>Лето</b>	65	25	38,5	36	12	33,3
<b>Осень</b>	65	20	30,8	36	7	19,4
<b>Зима</b>	65	11	16,9	36	5	13,9
<b>Итого</b>	<b>260</b>	<b>87</b>	<b>33,5</b>	<b>144</b>	<b>38</b>	<b>26,4</b>

В разные периоды года было обследовано 404 норки, из них 260 проб было отобрано у молодняка, 144 пробы от взрослых животных, ЭИ составила 33,5 и 26,4%, соответственно.

Пик инвазии у молодняка и у взрослых норок в зверохозяйствах Калининградской области приходится на весну (май месяц), так у щенков ЭИ эймериидозной инвазии в этот период составила 47,7%, а у животных из основного поголовья – 38,9% (Рисунок 2.2.2.2.3-2.2.2.2.4). В летние месяцы ЭИ немного снижается в обеих группах – 38,5 и 33,3%, соответственно. При этом была прослежена зависимость между ЭИ у животных и потреблением норками воды. В зверохозяйствах, где используются автопоилки и животные имеют неограниченный доступ к воде, ЭИ была выше, чем в зверохозяйстве, где система автопоилок вышла из строя и воду животным доставляли сотрудники ферм ручным способом. Таким образом в летнее время животные не всегда были обеспечены водой в полном объеме, у этих животных ЭИ была

самой низкой в этот период. Мы допускаем, что это всего лишь совпадение, однако считаем, что необходимо дальнейшее изучение данного вопроса.

Осенью и зимой ЭИ у животных из Калининградской области снижалась также, как и в Ленинградской области. В зимний период ЭИ у норок в зверохозяйствах Ленинградской области была выше среди взрослого поголовья (15,8%) против 12,7% у молодняка, а в Калининградской области ЭИ молодняка (16,9%) была выше, чем у взрослых (13,9%), это наблюдалось не только в зимние месяцы, но и в течение всего года (Рисунок 2.2.2.2.5).

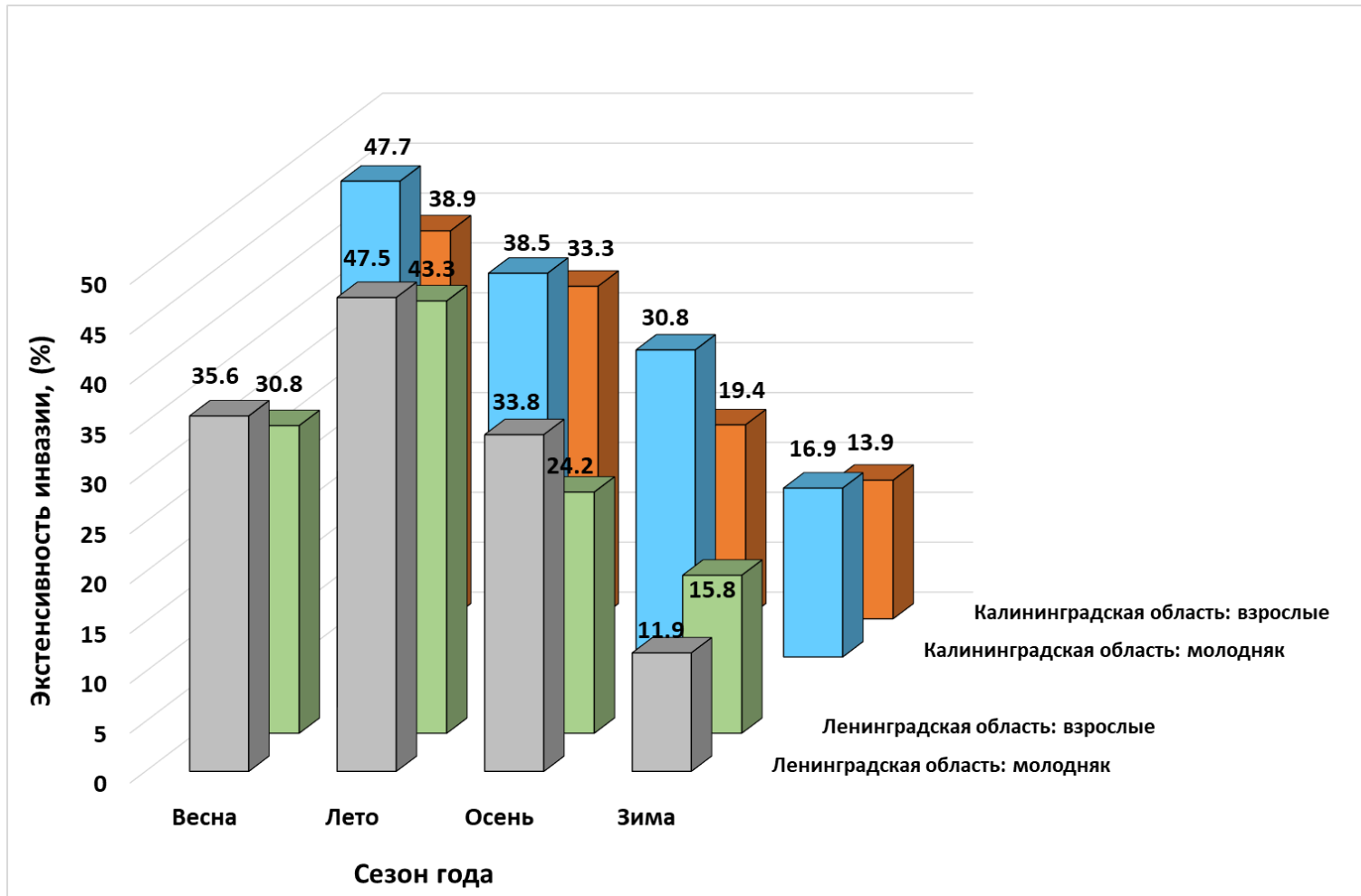


Рисунок 2.2.2.2.5 – Сезонная динамика инвазированности норок эймеридами  
в Ленинградской и Калининградской областях

### **2.2.2.3 Ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по эймериидозам норок в звероводческом хозяйстве**

Для планирования и осуществления мероприятий по борьбе с паразитарными болезнями пушных зверей и оценки их эффективности необходимо провести, в первую очередь, мониторинг эпизоотической ситуации. Изучение многолетней динамики заболеваемости животных на конкретной территории, является исходным направлением ретроспективного анализа.

Для проведения более всестороннего ретроспективного анализа нами была изучена не только эпизоотическая ситуация на протяжении 9 лет, но и были запрошены данные о погоде в данном районе с ближайшей к месту проведения исследования метеорологической станции (Николаевское, Ленинградская область – координаты 58.567, 29.800). Результаты многолетних наблюдений температуры воздуха, а также количества осадков в Ленинградской области за период 2009-2018 гг. и их ретроспективный анализ представлены на (Рисунках 2.2.2.3.1 и 2.2.2.3.2).



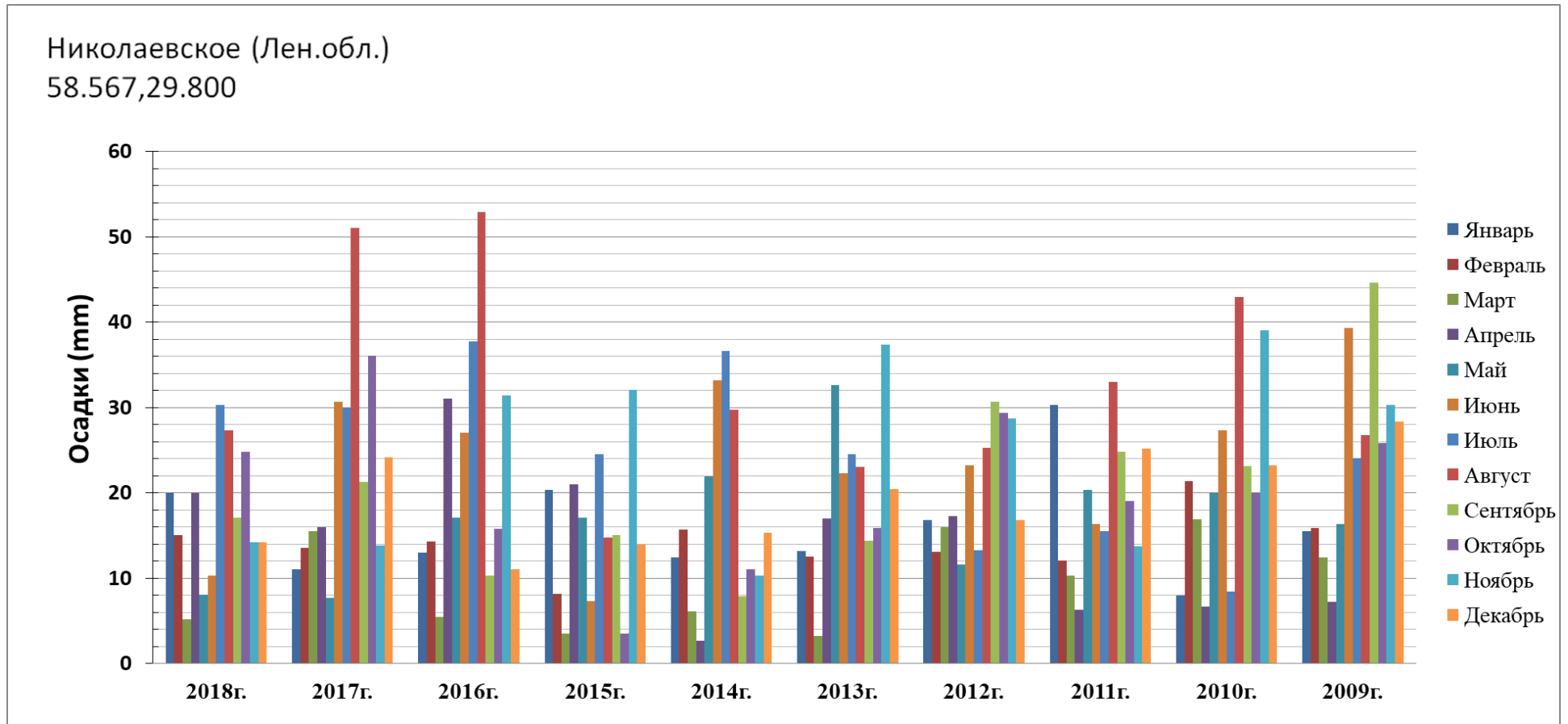


Рисунок 2.2.2.3.1 – Ретроспективный анализ среднего количества выпавших осадков в период 2009-2018 гг.

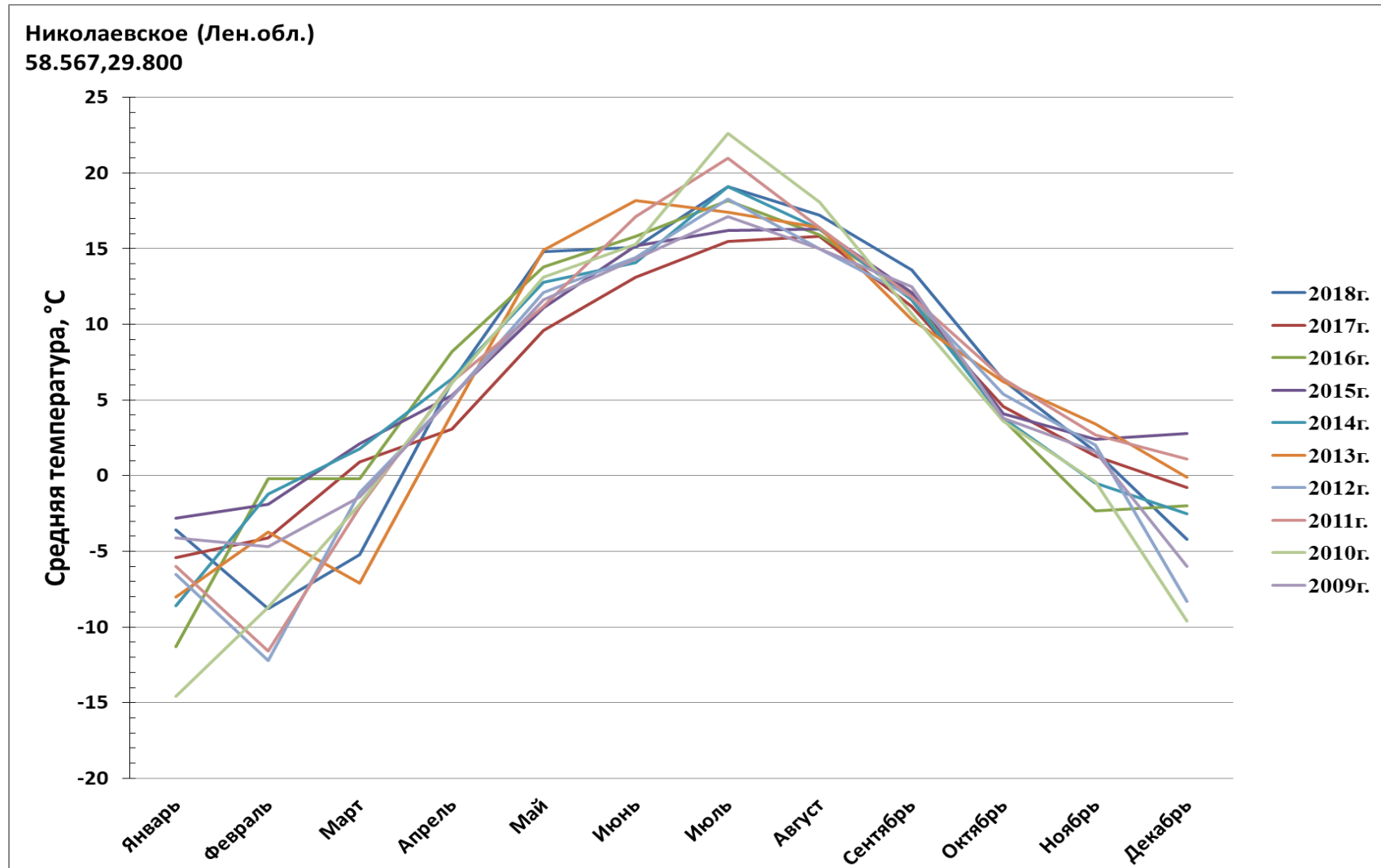


Рисунок 2.2.2.3.2 – Ретроспективный анализ среднегодовой температуры в период 2009-2018 гг.

Из рисунка 2.2.2.3.2 следует, что среднегодовая температура воздуха составила  $+15,5^{\circ}\text{C}$ , где максимальная температура  $+22,6^{\circ}\text{C}$  пришлась на июль 2010 г., а минимальная среднегодовая температура воздуха  $-14,6^{\circ}\text{C}$  зарегистрирована в январе 2010 г.

Распределение осадков по месяцам приведено на рисунке 2.2.2.3.1. Из графика видно, что максимальное годовое количество атмосферных осадков наблюдалось в 2009г., которое составило 653 мм. Максимальное месячное количество осадков (52,9 мм) выпало в августе 2016 г.

Распределение осадков по сезонам происходит неравномерно. Больше половины их приходится на теплое время года, максимальное количество дней с осадками приходится на август и июнь. Наименьшее количество осадков выпадает в январе и феврале.

Сопоставив результаты двух видов исследований, можно предположить, что кривая ЭИ и ее распределение во времени прямо пропорционально климатическим условиям окружающей среды. Анализ климата за весь период исследования показал, что пики эймериидозной инвазии совпадали с наиболее теплыми зимами, а также в года с теплым и влажным летом и теплой осенью, с большим количеством осадков (апрель-июнь, октябрь-ноябрь).

В зимний период прослеживается тенденция к снижению инвазии у норок всех возрастных групп. Низкая зараженность животных в зимний период объясняется низкой температурой воздуха, которая является неблагоприятной для формирования инвазионных ооцист. Тогда как с наступлением тепла в весенний период эймериидозная инвазия снова возрастала.

Затем было проведено сопоставление пиков экстенсивности инвазии в разные годы и месяцы с погодными условиями в данный период. Всего на этом этапе исследовано 4684 пробы фекальных масс от 2187 взрослых норок и 2497 молодняка.

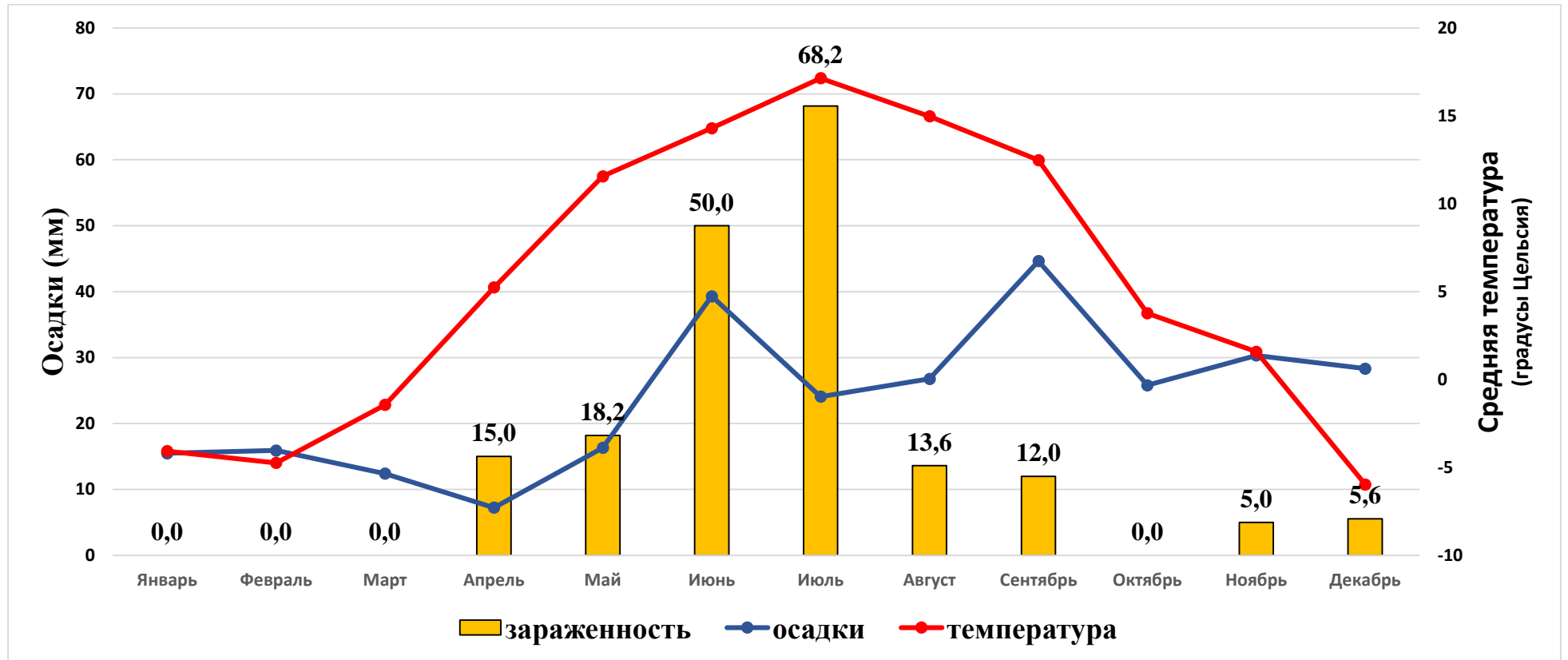


Рисунок 2.2.2.3.3 – Ретроспективный анализ экстенсивности инвазии и погодных условий в данный период наблюдения

Помимо клинических обследований зверей, исследования проб фекалий флотационными методами, во избежание искажения полученных результатов, проводились анализы технологии производства и содержания, условий кормления (тип и кратность), используемые корма, а также учет организации профилактических и лечебных мероприятий.

В настоящее время в зверохозяйстве применяется шедовая система содержания норок. Кормление зверей всех возрастных группы полноценное, то есть сбалансированное по питательным веществам и энергии. Ветеринарно-санитарные обработки проводятся в срок.

За последние десять лет в зараженности пушных зверей эймериидозной инвазией прослеживается четкая динамика к снижению ЭИ, тем не менее она имеет сезонный и возрастной характер. Так в 2009 г., как у взрослых норок, так и у молодняка ЭИ держалась на относительно высоком уровне и составила 76,97 и 83,33%, соответственно. Особенно резко она возросла у молодых особей в 2010 г. (94,44%). Максимальная экстенсивность инвазии взрослых особей норок была установлена в 2010 году и составила 86,2%. Максимальная ЭИ молодняка была зарегистрирована в том же 2010 году и составила 94,4%.

По данным лабораторных исследований за 2013-2018 гг. эймериидозная инвазия была обнаружена у 18,3% взрослого поголовья зверей, а у молодняка – у 48,6% голов. После проведенных массовых эффективных профилактических и лечебных мероприятий, начиная с 2015 г. до 2018 г. видна четкая тенденция к снижению зараженности зверей всех возрастных групп (Рисунок 2.2.2.3.4). Минимальная зараженность норок среди взрослых особей была зарегистрирована в 2016 г. и составила 13,6%, а в 2017 и 2018 гг. – 0%. Среди молодняка – в 2018 г. – 5,4% и в 2017 г. – 9,7%.

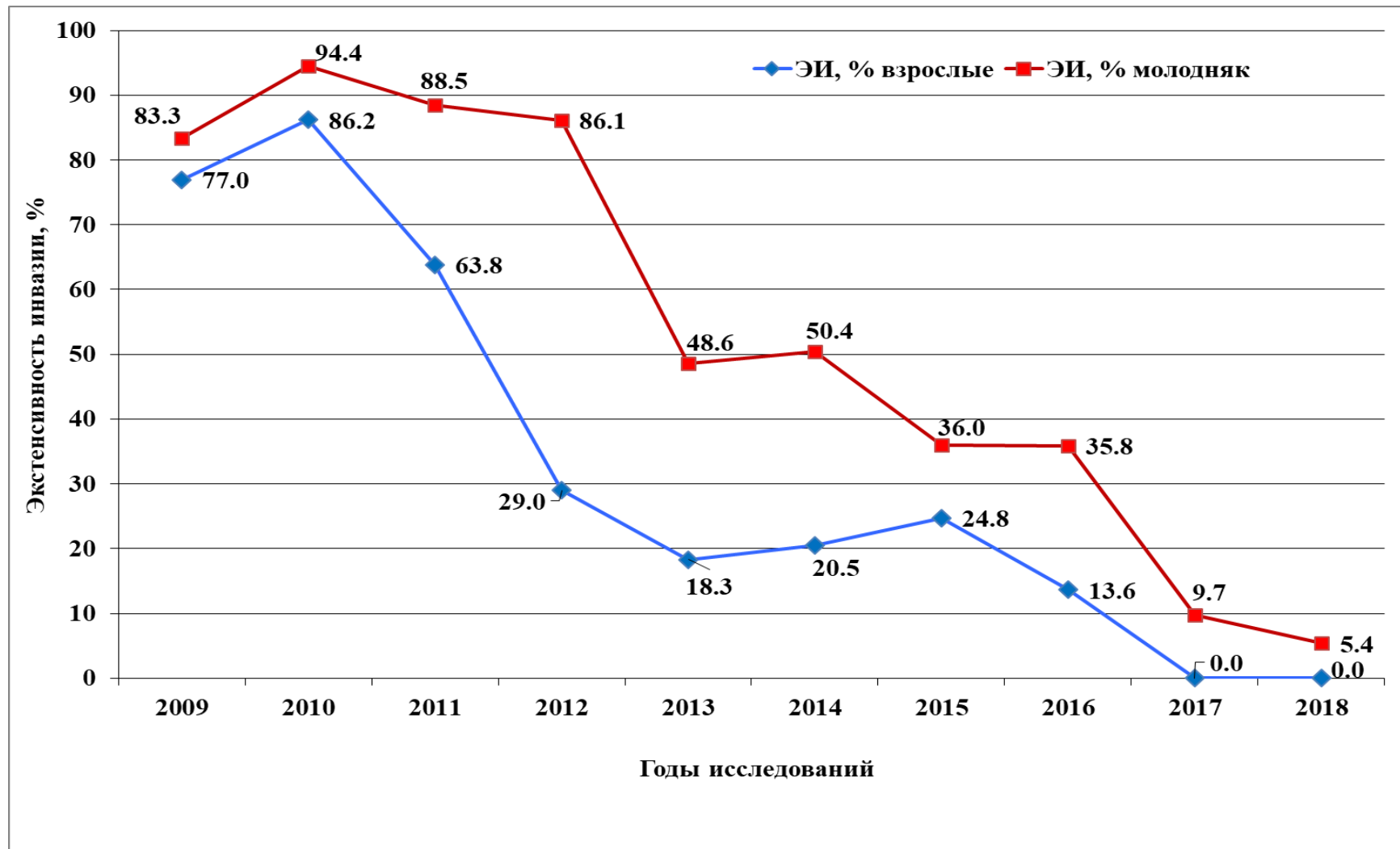


Рисунок 2.2.2.3.4 – Ретроспективный анализ ЭИ эймериидозами в одном из зверохозяйств Ленинградской области, в зависимости от возраста норок

Планомерное оздоравливание зверохозяйства позволило за 7 лет сократить ЭИ эймериидозов у молодняка до уровня 5,4%, а у взрослых животных – до 0%.

**Выводы.** Динамика ЭИ связана с погодными условиями. На количество биологических циклов развития эймерий влияют показатели среднегодовой температуры и влажности.

Проведенный мониторинг показал, что за отчетный период произошло снижение зараженности эймериидозами, как взрослых особей, так и молодых зверей по сравнению с 2009 г. Значительное снижение зараженности животных связано с планомерным проведением экспериментальных обработок животных противопротозойными препаратами в данном зверохозяйстве. Полученные результаты были использованы в ряде хозяйств для контроля эпизоотологической ситуации, а также лечения и профилактики болезней пушных зверей.

## 2

Отечественные и зарубежные авторы указывают на широту, как распространения данных паразитов, так и патогенного влияния их на организм различных животных [36, 38, 36, 82, 223, 293, 309, 357, 359].

Целью данного исследования явилось всестороннее изучение патологических процессов, происходящих в организме пушных зверей, спонтанно зараженных эймериидозами и гельминтозами.

Для достижения поставленной цели были применены прижизненные (клиническое обследование животных, морфологическое и биохимическое исследование крови) и посмертные (патологоанатомическое вскрытие вынужденно убитых животных, патоморфологическое, гистологическое и иммуногистохимическое исследование) методы. Исследования были проведены в общей сложности на 294 норках в период с 2013 по 2019 годы.

Проведенный клинический осмотр животных, зараженных эймериями и изоспорами показал, что норки отличались от животных контрольной группы тем, что были менее активными, у некоторых особей отмечалось снижение аппетита. Среди зараженных норок у большинства шерсть была взъерошенная, без блеска, они были апатичны, угнетены и дольше оставались в домиках. У всех выявленных заболевших нами животных наблюдалась диарея, у большинства с прожилками крови, слизи, иногда желчи, фекальные массы при этом были не оформленные с розовато-зеленоватым оттенком (Рисунок 2.2.3.1).



Рисунок 2.2.3.1 – Фекалии больных эймеридозами норок (оригинал)

Позывы к дефекации у больных норок были чаще примерно на 20-25%, чем у здоровой группы животных, а объем каловых масс меньше. Термометрия группы больных и здоровых животных показала, что температура тела у первых в среднем составляла  $38,6 \pm 0,15^{\circ}\text{C}$ , а у второй  $37,7 \pm 0,24^{\circ}\text{C}$ .

У норок в возрасте от 1,5 до 6 месяцев установили преимущественно острое и подострое течение эймериоза и изоспороза, а у животных старше полугода – подострое, хроническое и латентное течение болезни.



При хроническом течении болезни у зверей наблюдали снижение активности, аппетита, тусклость шерстного покрова, диарею с примесью крови и слизи. Позывы к дефекации у больных норок были чаще в 2-4 раза по сравнению со здоровыми животными. У 8 больных животных регистрировали тремор мускулатуры и светобоязнь.

Патогенное влияние возбудителя гельминтов на организм пушных зверей складывается из снижения или извращения аппетита, анемии видимых слизистых оболочек, взъерошенность шерсти, чередование диареи и запоров, патологического исхудания, а у молодняка не редко заканчивается гибелью.

Патогенное влияние возбудителя эймериид на организм пушных зверей складывается из механического, токсического и инокуляторного воздействия.

В содержимом желудочно-кишечного тракта обнаруживаются слизистые скопления, иногда с кровянистыми точками. При этом наблюдается подострый катарально-геморрагический энтерит, который проявляется участками гиперемии и отека слизистой оболочки тонкой кишки, слущиванием эпителия, что сопровождается нарушением структуры ворсинок. В толстом кишечнике обнаруживаются участки с точечными кровоизлияниями, стенка покрыта тягучей прозрачной слизью.

Слой слизи, который покрывает кишечный эпителий, образует мощный барьер, который защищает хозяина от патогенных микроорганизмов и обеспечивает взаимодействие хозяина со всеми организмами, обитающими в его просвете. Паразиты оказывают существенное воздействие на морфо-биоиммунологические качества слизи, которые могут влиять на микробиоту в организме позвоночного животного [100, 258, 302].

Однако, основное предназначение пушных зверей, в частности норок это получение от них качественных шкурок, которые затем можно было бы использовать для изготовления меховых изделий. Поэтому крайне важно проследить патогенное действие паразитозов (эймериидозов) на качество шкурок норок, спонтанно зараженных простейшими.

### **2.2.3.1 Изменение товарных свойств волосяного покрова шкурок норок в зависимости от интенсивности инвазии эймериидозами**

На качество пушно-мехового сырья оказывает влияние, как внутренние факторы: общее физиологическое состояние животного, его иммунологическая реактивность, так и внешние – инвазионные болезни.

Целью данного раздела, явилось изучение показателей некоторых товарных свойств волосяного покрова шкурок норок разного пола (клеточного разведения), в зависимости от ИИ эймериидами.

Объектами исследования служили шкурки норок ( $n=24$ ) разного пола по (12 особей) стандартного темно-коричневого (СТК) цветового типа: 1-ая группа шкурок – от клинически здоровых животных ( $n=6$ ); 2-ая группа шкурок – от больных эймериидозами норок со слабой ИИ ( $n=6$ ); 3-я группа шкурок – от больных эймериидозами норок со средней ИИ ( $n=6$ ); 4-ая группа шкурок – от больных эймериидозами с высокой ИИ ( $n=6$ ). При этом слабой ИИ считали, когда в 1 г фекалий было от 1 до 280 ооцист, средней от 280 до 560, и высокой от 560 до 1280 ооцист. При изучении длинны различных видов волос от каждой шкурки отбиралось по 25 образцов ( $a=25$ ).

Изучение изменений товарных свойств волосяного покрова шкурок норок проводился нами в 4 этапа (Таблицы 2.2.3.1.1-2.2.3.1.4).

В первую очередь были изучены показатели истинной и естественной длины всех категорий волос шкурок норок четырех подопытных групп, в зависимости от ИИ эймериидозами. Результаты исследования длины пуховых и переходных волос шкурок норок разного пола приведены в таблице 2.2.3.1.1 и 2.2.3.1.2.

Таблица 2.2.3.1.1 – Длина пуховых волос (a=25) шкурок норок, мм

Топографические участки	Пол	1-ая группа		2-ая группа		3-я группа		4-ая группа	
		ест. *	ист. *	ест.	ист.	ест.	ист.	ест.	ист.
Череве	♂								
	♀	13,0±0,3	14,0±0,3	11,9±0,8	12,2±0,6	11,7±0,6	12,05±0,5	10,0±0,4	11,0±0,4
Хребет	♂								
	♀	13,1±0,2	14,3±0,2	12,8±0,3	13,0±0,5	12,1±0,8	12,1±0,8	10,7±0,6	11,7±0,4
Огузок	♂								
	♀	12,0±0,7	13,0±0,7	11,7±0,5	12,1±0,5	11,1±0,2	11,9±0,2	9,3±0,7	10,8±0,6

Ест. \* - естественна длина волоса

Ист.\* - истинная длина волоса

Таблица 2.2.3.1.2 – Длина переходных волос (a=25) шкурок норок, мм

Топографические участки	Пол	1-ая группа		2-ая группа		3-я группа		4-ая группа	
		ест. *	ист. *	ест.	ист.	ест.	ист.	ест.	ист.
Череве	♂	15,5±0,3	17,4±0,2	15,3±0,2	16,4±0,2	14,4±0,3	15,2±0,2	13,7±0,3	15,1±0,2
	♀	14,2±0,5	15,4±0,5	14,0±0,2	14,4±0,8	12,9±0,2	13,5±0,2	12,3±0,5	13,5±0,5
Хребет	♂	20,9±0,3	21,9±0,3	20,0±0,3	21,5±0,3	20,0±0,3	21,2±0,4	19,4±0,4	21,2±0,2
	♀	14,6±0,3	15,4±0,3	14,4±0,3	15,3±0,3	13,5±0,2	13,6±0,2	12,8±0,5	13,8±0,5
Огузок	♂	17,9±0,3	19,9±0,3	17,4±0,4	18,6±0,4	16,4±0,4	18,0±0,3	15,2±0,2	15,8±0,2
	♀	14,1±0,4	15,2±0,4	13,7±0,4	15,4±0,4	11,1±0,3	12,1±0,3	11,3±0,3	12,0±0,3

Ест. \* - естественна длина волоса

Ист.\* - истинная длина волоса

Таблица 2.2.3.1.3 – Длина остевых волос ( $n=25$ ) шкурок норок разного пола, мм

Топографические участки	Пол	1-ая группа	2-ая группа	3-я группа	4-ая группа
Череве	♂	24,9±0,4	24,2±0,3	20,6±0,3	20,5±0,3
	♀				
Хребет	♂	27,1±0,2	26,2±0,3	24,8±0,3	24,5±0,2
	♀	20,0±0,4	19,8±0,4	17,1±0,4	16,2±0,4
Огузок	♂	24,9±0,4	24,2±0,3	20,6± 0,3	20,5±0,3
	♀	19,2±0,4	18,8±0,4	16,7±0,5	14,8±0,3

Таблица 2.2.3.1.4 – Высота волосяного покрова шкурок норок разного пола, мм

Топографические участки	Пол	1-ая группа	2-ая группа	3-я группа	4-ая группа
Череве	♂	22,5±0,4	21,8±0,2	18,4±0,4	18,3±0,3
	♀	16,5±0,6	15,7±0,6	13,2±0,5	13,1±0,5
Хребет	♂	26,5±0,2	25,9±0,4	21,3 ±0,3	20,4±0,2
	♀	17,0±0,4	15,8±0,4	13,9±0,4	13,2±0,4
Огузок	♂	24,1±0,2	23,3±0,3	18,8±0,2	18,7±0,2
	♀	16,2±0,4	15,3±0,4	13,7±0,5	11,8±0,3

Анализ результатов, длины пуховых волос (Таблица 2.2.3.1.1) показал, что достоверной разницы между показателями как естественной, так и истинной длины пуховых волос на соответствующих топографических участках шкурок самок норки второй, третьей и четвертой групп нет, все они уступают аналогичным показателям шкурок самок норки первой группы в среднем на 2-3 мм. У самцов длина пуховых волос во всех четырех подопытных группах не имела достоверных отличий.

Исходя из результатов анализа длины переходных волос (Таблица 2.2.3.1.2), можно сделать вывод, что достоверной разницы между показателями как естественной, так и истинной длины на соответствующих топографических участках шкурок животных обоих полов норок первой и второй групп нет. Показатели естественной и истинной длины переходных волос на соответствующих топографических участках шкурок самок норки третьей и четвертой групп достоверно меньше аналогичных показателей первой и второй групп в среднем на 2 мм, самцов на 2-3 мм.

Анализ полученных результатов (Таблица 2.2.3.1.3) показал, что достоверной разницы между показателями длины остевых волос на соответствующих топографических участках шкурок самок и самцов норки первой и второй групп нет. Показатели длины остевых волос на соответствующих топографических участках шкурок самок норки третьей и четвертой групп достоверно меньше аналогичных показателей первой и второй групп в среднем на 2-3 мм, а у самцов на 3-4 мм.

На следующем этапе работы была изучена высота волосяного покрова шкурок норок разного пола четырех групп, в зависимости от ИИ эймериидозов (Таблица 2.2.3.1.4). В результате установлено, что достоверной разницы между показателями высоты волосяного покрова на соответствующих топографических участках шкурок у самок и самцов норки первой и второй групп нет. Показатели высоты волосяного покрова на соответствующих топографических участках шкурок самок норки третьей и четвертой групп

достоверно меньше аналогичных показателей первой и второй групп в среднем на 2-3 мм, а у самцов в этих же группах на 4-6 мм.

Таким образом можно сделать вывод, что вторая группа шкурок от больных эймериидозами самок норки со слабой ИИ имеет одинаковые показатели длины волос (кроме пухового волоса) и высоты волосяного покрова, шкурки самцов, этой группы вообще не имели достоверного отличия от первой группы шкурок, полученных от клинически здоровых животных. Шкурки третьей группы от больных эймериидозами самок и самцов норки со средней ИИ и четвертая группа шкурок от больных эймериидозами животных обоих полов норки с высокой ИИ уступают по показателям длины переходных, остевых волос и высоте волосяного покрова шкуркам норки первой и второй групп.

Одним из значимых свойств является толщина волос различных категорий, которая совместно с их длиной, обуславливает мягкость, упругость и шелковистость волосяного покрова шкурок норки.

Результаты, изучения показателей толщины остевых, переходных и пуховых волос на разных топографических участках шкурок самцов и самок норки представленные в таблице 2.2.3.1.5 позволяют утверждать, что достоверной разницы между показателями толщины пуховых волос на соответствующих топографических участках шкурок самцов и самок норки всех подопытных групп нет. Показатели толщины переходных волос на соответствующих топографических участках шкурок самцов и самок норки первой и второй подопытных групп превышают аналогичные показатели третьей и четвертой групп в среднем на 1-2 мкм. Показатели толщины остевых волос на соответствующих топографических участках шкурок самцов и самок норки третьей и четвертой групп уступают аналогичным показателям в среднем на 3,5-4,5 мкм.

Таблица 2.2.3.1.5 – Толщина волос шкурок норки разного пола, мкм, n=24

Группа n=6	Топографи- ческий участок	Пол	Категории волос					
			Пуховые		Переходные		Остевые	
			X± m <sub>x</sub>	C <sub>y</sub> , %	X± m <sub>x</sub>	C <sub>y</sub> , %	X± m <sub>x</sub>	C <sub>y</sub> , %
1-ая группа	Хребет	♂	12,8±0,1	8,1	25,8±0,2	2,3	99,9±0,4	3,1
		♀	12,7±0,2	11,6	25,5±0,1	3,5	98,1±0,7	4,6
	Череве	♂	12,7±0,2	6,1	25,9±0,2	2,8	98,4±0,5	3,7
		♀	12,6±0,1	10,2	25,4±0,1	3,4	96,3±0,8	6,6
	Огузок	♂	12,7±0,1	7,9	25,8±0,2	2,4	98,7±0,6	4,6
		♀	12,6±0,2	10,1	25,4±0,2	3,6	95,8±0,9	3,9
2-ая группа	Хребет	♂	12,6±0,1	8,1	24,8±0,1	3,2	98,3±0,4	1,9
		♀	12,5±0,1	11,2	25,1±0,1	5,2	96,7±0,8	6,8
	Череве	♂	12,5±0,2	11,2	25,7±0,2	5,0	97,3±0,7	3,5
		♀	12,4±0,1	10,3	24,9±0,1	3,8	96,2±0,7	3,9
	Огузок	♂	12,5±0,2	10,4	25,6±0,3	4,6	96,3±0,6	3,0
		♀	12,4±0,1	11,2	24,7±0,2	3,6	95,1±0,8	4,6
3-я группа	Хребет	♂	12,3±0,1	8,1	24,3±0,2	3,2	95,3±0,3	1,9
		♀	12,4±0,2	12,2	24,4±0,2	3,2	95,8±0,7	4,6
	Череве	♂	12,4±0,2	11,2	24,5±0,1	5,0	94,3±0,5	3,5
		♀	12,3±0,2	8,1	24,2±0,1	3,6	95,1±0,9	4,4
	Огузок	♂	12,5±0,2	10,4	24,5±0,2	4,6	94,3±0,7	3,0
		♀	12,3±0,2	8,9	24,0±0,1	4,6	94,8±0,8	5,3
4-ая группа	Хребет	♂	12,2±0,2	12,3	24,3±0,1	8,0	95,4±1,0	6,4
		♀	12,2±0,1	12,4	23,8±0,1	4,5	94,4±0,8	5,2
	Череве	♂	12,4±0,1	8,1	24,4±0,2	6,7	95,2±0,9	6,0
		♀	11,8±0,2	1,5	23,7±0,1	4,8	93,1±0,9	6,2
	Огузок	♂	12,4±0,2	12,5	24,4±0,2	6,9	94,6±1,0	6,8
		♀	12,1±0,2	11,3	23,2±0,2	3,9	92,8±0,7	4,9

Густота волосяного покрова шкурки пушного зверя является одним из определяющих свойств при оценке качества пушного сырья. Результаты исследования густоты волосяного покрова шкурок самцов и самок норки н приведены в таблице 2.2.3.1.6.

Анализируя данные этой таблицы, можно отметить, что у всех групп шкурок самцов и самок норки наиболее густой волосяной покров на хребте и огузке, более редкий – на череве. Показатели густоты волосяного покрова шкурок самцов и самок норки первой и второй подопытных групп не имеют достоверных различий.

Таблица 2.2.3.1.6 – Густота волосяного покрова шкурок норки разного пола, тыс. шт./1 см<sup>2</sup>

Группа n=6	Густота волосяного покрова $X \pm m_x$				
	пол	Топографический участок			
		хребет	огузок	черево	$\Sigma$ ср гр
1-я группа	♂	21148,1±411,4	21249,2±413,0	20100,9±389,4	20832,7±411,6
	♀	21114,7±411,1	21159,0±411,3	20088,2±368,4	20787,3±394,9
2-я группа	♂	21133,2±236,6	21094,7±367,1	20097,9±322,4	20775,2±376,6
	♀	21118,4±301,5	21077,0±321,0	20084,4±329,0	20759,9±371,4
3-я группа	♂	18840,6±315,2	18907,7±318,3	18224,0±319,4	18657,4±373,1*
	♀	18704,3±311,1	18801,4±308,8	18121,1±302,9	18542,2±352,3*
4-я группа	♂	17142,8±267,5	17184,5±269,5	17074,1±250,6	17133,8±341,5*
	♀	17102,1±251,8	17116,5±259,5	17038,2±248,2	17085,6±325,2*

Показатели густоты волосяного покрова шкурок самцов и самок норки третьей и четвертой групп достоверно уступают аналогичным показателям первой и второй групп в среднем на 10-15%. Следовательно, у шкурок самцов и самок норки, полученных от зверей со средней и высокой степенью ИИ показатели густоты волосяного покрова заметно ниже, чем у шкурок самцов и самок норки, полученных от здоровых зверей и со слабой ИИ, что отрицательно влияет на качество шкурок и их оценку.

К одним из критериев, влияющих на основные товарные свойства шкурок, относятся толщина и длина волос, которые обуславливают мягкость волосяного покрова, при этом соотношение толщины волоса к его длине служит количественным выражением мягкости волоса и носит название коэффициента мягкости. Результаты подсчета степени мягкости шкурок самцов и самок норки представлены в таблице 2.2.3.1.7.

Таблица 2.2.3.1.8 – Коэффициент мягкости шкурок норки разного пола,

$$K_m \times 10^{-3}$$

Группа n=6	Топографический участок					
	Хребет		Черево		Огузок	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1-ая группа	3,8	4,9	4,0	4,9	3,9	4,9
2-ая группа	3,7	4,8	4,1	5,0	4,1	5,0
3-я группа	3,9	5,6	3,9	5,5	4,1	5,6
4-ая группа	3,9	5,8	4,2	5,7	4,0	6,2



Коэффициент мягкости шкурок самцов норки на соответствующих топографических участках практически одинаков для всех подопытных групп, следовательно, не является характеризующим фактором степени ИИ. Коэффициент мягкости шкурок самок норки на соответствующих топографических участках первой и второй групп меньше, чем аналогичный показатель третьей и четвертой подопытных групп, что говорит о более мягком волосяном покрове у клинически здорового зверя и со слабой ИИ.

На заключительном этапе исследования были изучены размерные характеристики и показатели сортировки шкурок норки в соответствии с требованиями ГОСТ Р 55587-2013. Результаты изучения размерных характеристик шкурок самцов и самок норки представлены в таблице 2.2.3.1.8.

Таблица 2.2.3.1.8 – Размерные характеристики шкурок норки разного пола

Группа n=6	Пол	Свойства шкурок			
		Длина, см		Площадь, см <sup>2</sup>	
		X±T <sub>x</sub>	C <sub>v</sub> , %	X±T <sub>x</sub>	C <sub>v</sub> , %
1-ая группа	♂	84,7±0,9	6,0	1368,7 ±14,8	6,1
	♀	66,8±0,9	6,0	1020,8±13,2	6,0
2-ая группа	♂	82,8±0,9	5,9	1355,5±14,6	5,9
	♀	68,7±0,8	5,9	990,7±13,5	6,1
3-я группа	♂	79,1±0,9	6,0	1339,2±14,6	6,0
	♀	58,6±0,7	6,0	812,6±13,7	5,9
4-ая группа	♂	77,4±1,0	6,2	1316,9±15,6	6,3
	♀	55,9±0,9	6,1	715,8±13,6	6,2

Достоверной разницы между показателями площади шкурок самцов норки первой, второй и третьей групп нет, показатель площади шкурок самцов норки четвертой группы достоверно меньше остальных в среднем на 2-3%. Достоверной разницы между показателями площади шкурок самок норки первой и второй групп нет. Показатели площади шкурок самок норки третьей и четвертой групп достоверно меньше аналогичных показателей первой и второй подопытных групп в среднем на 1,5-3%.

Результаты сортировки шкурок самцов и самок норки представлены в таблице 2.2.3.1.9.

Анализ полученных результатов позволяет констатировать, что шкурки самцов и самок норки первой и второй подопытных групп были представлены в основном размерами: особо крупный А и особо крупный Б, крупный (шкурки самок), все они соответствовали характеристикам 1 сорта (полноволосые, с густым и уравненным волосяным покровом) и 1 группе дефектности (без дефектов), следовательно качество шкурок самцов норки первой и второй опытных групп составило от 115 до 130%, качество шкурок самок норки от 90 до 105%, что подтверждает их ценность. Шкурки самцов и самок норки третьей и четвертой подопытных групп были представлены в основном размерами: крупный и средний (кроме шкурок самцов 3 группы - ОКБ), все они соответствовали характеристикам 2 сорта (менее полноволосые, с редковатым и недостаточно уравненным волосяным покровом); 2-ой и 3-ей группам дефектности, что значительно снизило их ценность, качество шкурок самцов норки третьей и четвертой опытных групп составило от 60 до 79%, качество шкурок самок норки от 50 до 61%. На понижение группы дефектности шкурок самцов и самок норки третьей и четвертой опытных групп оказало влияние наличия на них характерных для данного вида дефектов: сеченность (битость) волосяного покрова, вытертые места, подмокание, закрученность вершин ости, все они относятся к прижизненным. Такие дефекты, часто звероводы списывают на недостатки селекционной работы, неправильное кормление и содержания пушных зверей, помимо этого на качество шкурок может оказать влияние общее физиологическое состояние животного и его иммунологическая реактивность. В ходе проведенных исследований доказано влияние эймериидозов на качество получаемой меховой продукции.

Таблица 2.2.3.1.9 – Результаты сортировки шкурок норки разного пола

Группа n=6	Пол	Размер	Подразмер	Количество шкурок	Сорт	Группа дефектности	Качество в %	Количество головок	$\Sigma$ головок в группе
1-ая группа	♂	ОКА	0000	4	1	1	130,0	5,2	7,7
		ОКА	000	2	1	1	125,0	2,5	
	♀	ОКБ	1	3	1	1	105,0	3,2	6,2
		крупный	2	3	1	1	100,0	3,0	
2-ая группа	♂	ОКА	00	3	1	1	120,0	3,6	7,0
		ОКА	0	3	1	1	115,0	3,4	
	♀	крупный	3	5	1	1	95,0	4,8	5,7
		крупный	4	1	1	1	90,0	0,9	
3-я группа	♂	ОКБ	1+	4	2	2	79,2	3,2	4,5
		ОКБ	1	2	2	3	66,0	1,3	
	♀	крупный	5	2	2	2	61,2	1,2	3,5
		крупный	6	4	2	2	57,6	2,3	
4-ая группа	♂	крупный	2	2	2	3	63,0	1,3	3,7
		крупный	3	4	2	3	60,0	2,4	
	♀	крупный	6	3	2	3	54,0	1,6	3,1
		средний	7	3	2	3	50,4	1,5	

Исходя из полученных данных можем сделать следующие выводы:

- шкурки самцов и самок норки первой группы, полученные от клинически здоровых животных, имеют одинаковые показатели основных товарных свойств волосяного покрова и оценки качества со шкурами самцов и самок норки второй группы, полученными от больных эймериидозами зверей со слабой ИИ, следовательно, пушное сырье будет обладать высокими потребительскими свойствами;
- у шкурок самцов и самок норки третьей группы, полученных от больных эймериидозами зверей со средней ИИ и четвертой группы, полученных от больных эймериидозами зверей с высокой ИИ значительно снизились показатели основных товарных свойств волосяного покрова, что определило ухудшение сортировочных показателей, потерю качества и ценности пушного сырья.

#### **2.2.4 Изучение клинических и биохимических показателей крови при эймериидозах норок и у здоровых животных**

Результаты текущего этапа исследования опубликованы в статье «Особенности диагностики и патоморфологии эймериидозов норок в зверохозяйствах Северо-Западного региона Российской Федерации» [100].

Гематологические показатели крови являются важным критерием оценки состояния организма животных в целом и влияния, оказываемого на него паразитами. Результаты паразитологических исследований, проведенных нами, показали, что эймериидозы широко распространены в обследованных зверохозяйствах. Клинически болезни протекают в основном остро или подостро. У молодняка (текущего года рождения) чаще наблюдается острое течение, а у взрослых зверей – подострое и хроническое, а зачастую бессимптомное. Учитывая вышеизложенное, для полноты изучения особенностей патогенеза эймериидозов норок нами были проведены лабораторные исследования крови. Для этого от больных эймериидозами

(подопытные животные) и от здоровых животных (контроль) отбиралась кровь для проведения клинического и биохимических анализов. Результаты приведены в таблице 2.2.4.1.

Таблица 2.2.4.1 – Клинические и биохимические показатели крови здоровых и зараженных эймериидозами норок ( $M \pm SEM$ )

Показатель	Здоровые норки (n=12)		Больные норки (n=40)		Критерий	
	$M \pm SEM$	Cv, %	$M \pm SEM$	Cv, %	t <sub>факт.</sub>	p-value
Гемоглобин, г/л	170±5,5	10,7	147±4,8	20,7	3,151	0,003
Эритроциты, ( $10^{12}/л$ )	8,9±0,6	22,4	6,4±0,4	39,5	3,467	0,001
Тромбоциты, ( $10^9/л$ )	447,8±15,1	11,2	417±19,6	29,7	1,245	0,219
Лейкоциты, ( $10^9/л$ )	5,4±0,4	24,6	7,8±0,3	24,3	4,800	0,000
Базофилы, %	0,3±0,42	464,3	0,6±0,36	379,5	0,542	0,590
Эозинофилы, %	1,8±0,28	51,6	7,5±0,42	35,4	11,292	0,000
Юные нейтрофилы, %	0±0	-	0,36±0,4	702,7	0,900	0,372
Палочкоядерные нейтрофилы, %	4,61±1	71,9	7,36±1,2	103,1	1,761	0,084
Сегментоядерные нейтрофилы, %	48,2±4,5	31,0	63,8±2,8	27,8	2,943	0,005
Лимфоциты, ( $10^{12}/л$ )	42,99±3,9	30,1	17,44±4,6	166,8	4,237	0,000
Моноциты, %	2,1±0,16	25,3	2,94±0,9	193,6	0,919	0,363
Средние клетки, ( $10^9/л$ )	3,2±0,6	62,2	3,4±0,2	37,2	0,316	0,753
Общий белок, г/л	74,46±3,42	15,2	64,7±2,14	20,9	2,419	0,019
Общий билирубин, мкмоль/л	7,08±0,32	15,0	10,7±0,9	53,2	3,790	0,000
Глюкоза, ммоль/л	9,1±0,51	18,6	5,63±0,84	94,4	3,531	0,001
Мочевина, ммоль/л	6,18±1,13	60,6	4,87±0,36	46,8	1,105	0,275
Креатинин, мкмоль/л	47,8±1,87	13,0	70,2±2,41	21,7	7,343	0,000
Мочевая кислота, мкмоль/л	48,1±2,54	17,5	54,6±1,62	18,8	2,158	0,036
Общие липиды, ммоль/л	6,71±0,06	3,0	7,14±0,13	11,5	3,003	0,004
Холестерин, ммоль/л	6,53±0,58	29,5	8,7±1,4	101,8	1,432	0,158
Триглицериды, ммоль/л	1,01±0,05	16,4	1,34±0,07	33,0	3,836	0,000

*Примечание.* Статистическая значимость различий данных достоверна \*( $p \leq 0,05$ ).

Морфологический состав крови у клинически здоровых и больных норок отличался. Так уровень гемоглобина снижался с  $170 \pm 5,5$  до  $147 \pm 4,8$  г/л ( $P \leq 0,05$ ), также количество эритроцитов у больных эймериидозами норок

снижалось с  $8,9 \pm 0,6$  ( $P \leq 0,05$ ) до  $6,4 \pm 0,4 \times 10^{12}/л$ ; однако, мы наблюдали достоверное увеличение количества лейкоцитов с  $5,4 \pm 0,4$  до  $7,8 \pm 0,3 \times 10^9/л$  ( $P \leq 0,05$ ), соответственно. У зараженных животных отмечалось незначительное снижение тромбоцитов.

Анализ лейкограммы показал, что большинство показателей крови, как у контрольной группы, так и у подопытной оставались в рамках референтных значений, за некоторым исключением. У зараженных норок наблюдалась эозинофилия, данный показатель увеличился с  $1,8 \pm 0,28$  до  $7,5 \pm 0,42\%$ . Уровень базофилов у норок из подопытной группы увеличился в два раза по сравнению с контролем. В крови больных животных появились юные нейтрофилы –  $0,36 \pm 0,4\%$ . Во время эксперимента была установлена лимфопения, данный показатель резко снизился у подопытных животных по сравнению с контрольной группой с  $42,99 \pm 3,9$  до  $17,44 \pm 4,6\%$ , соответственно. При этом достоверно наблюдалась сегментоядерная нейтрофилия, этот показатель резко повышался с  $48,2 \pm 4,5$  до  $63,8 \pm 2,8\%$  ( $P \leq 0,05$ ), однако оставался в пределах референтных значений. Также в 1,6 раза увеличился уровень палочкоядерных нейтрофилов с  $4,61 \pm 1,0$  до  $7,36 \pm 1,2\%$ , соответственно.

У животных в подопытной группе отмечалась протеинемия, показатель общего белка в данной группе достоверно составил –  $64,7 \pm 2,14$  г/л, что на 13,1% меньше, чем в контрольной группе ( $P \leq 0,05$ ) (Таблица 2.2.4.1).

Показатели небелковых азотистых оснований крови – билирубина, мочевины и креатинина в крови у больных и клинически здоровых животных отличались. Так, содержание общего билирубина и креатинина у подопытных животных повышалось на 33,83% и 31,9%, что соответствовало  $10,7 \pm 0,9$  и  $70,2 \pm 2,41$  ( $P \leq 0,05$ ). При этом уровень мочевины у больных животных снижался с  $6,18 \pm 1,13$  до  $4,87 \pm 0,36$  ммоль/л, что составило 21,19%.

Динамику жирового обмена определяли по следующим показателям: общие липиды, холестерин, триглицериды, которые важно учитывать при эймериидозах, т.к. печень и слизистая кишечника задействована в биосинтезе

этих компонентов. Все три показателя у больных животных из подопытной группы были выше, чем у контрольной, а именно – общие липиды на 6%, холестерин на 25%, триглицериды на 24,6%.

Таким образом, можно сделать вывод, что эймериидозы влияют на показатели крови больных животных, у таких зверьков снижается уровень гемоглобина в среднем на 13,5%, эритроцитов – на 28%, увеличилось количество лейкоцитов на 44%. В ходе всего эксперимента у больных норок наблюдалась эозинофилия, этот показатель более чем в 4 раза был выше у подопытных животных по сравнению с контролем, а количество базофилов – в два раза. Была установлена лимфопения у больных зверей, при этом у них достоверно наблюдалась сегментоядерная нейтрофилия. Биохимические показатели крови у больных эймериидозами животных отличались от контроля, в подопытной группе отмечалась протеинемия, содержание общего билирубина и креатинина у подопытных животных повышалось на 33,83% и 31,9%, а уровень мочевины у таких норок снижался на 21,19%. Подводя итог можно с достоверностью сказать, что эймериидозы наносят ощутимый ущерб организму больных животных, даже если болезнь протекает субклинически, так как не у всех животных из подопытной группы болезнь протекала остро, с проявлением клинических симптомов, диагноз на паразитарную инвазию был подтвержден лишь флотационными методами.

### **2.2.5 Динамика клеточных факторов иммунной системы пушных зверей**

Результаты данного этапа исследования опубликованы в статье «Динамика клеточных факторов иммунной системы здоровых норок, больных эймериидозами и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии» [106].

У животных и человека существует несколько биологических механизмов защиты от негативных факторов внешней окружающей среды, один из них – иммунитет [101]. Организм работает, как единое целое,

использует различные свои функции в том числе и защитные механизмы, которые взаимосвязаны и дополняют друг друга, одной из важнейших составляющих такой защиты, является иммунитет, который представлен комплексом органов и клеток организма, и реагирует (защищает) его против чужеродных объектов – простейших и гельминтов.

Одна популяция клеток – В-лимфоциты – формирующаяся под влиянием костного мозга, трансформируется в плазматические клетки, продуцирующие антитела (гуморальный иммунитет), а другая – Т-лимфоциты – (тимус зависимая) формирующаяся под контролем тимуса, трансформируется в малые лимфоциты, участвующие в реакциях клеточного иммунитета. Иммунные малые лимфоциты выделяют в кровь множество медиаторов, представляющих собой гуморальные факторы клеточного иммунитета. В процессе иммунного ответа В-лимфоциты активируются и превращаются в плазматические клетки, после чего начинается выработка антител, которые связываются с антигенами чужеродного происхождения (гельминтами, простейшими), и обуславливающих различные реакции, приводящие к разрушению агента. Впоследствии связывание антигена с Т-клетками приводит к развитию клеточного иммунного ответа, происходят различные реакции в организме больного животного, приводящие к его блокировке, а затем разрушению.

Целью настоящего исследования стало изучение динамики клеточных факторов иммунной системы у здоровых, зараженных эймериидозами пушных зверей и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии.

Учитывая короткий жизненный цикл норки, в качестве критерия для объективной оценки результатов вмешательства, был использован тест, с помощью которого оценивается динамика уровня Т-лимфоцитов в крови животных по результатам общего (клинического) анализа крови. Поэтому именно в этот период нами начато изучение процессов супрессии Т-лимфоцитов и их субпопуляций у зараженных норок и на фоне специфической



и иммунокорректирующей терапии, при этом контролем (в обеих группах контроля) служили здоровые животные.

В связи с внедрением в практическую ветеринарию принципов доказательной медицины рекомендуется проведение хорошо спланированных, контролируемых клинических исследований. Исходя из нашего целеполагания, а именно исследования эффективности новых лекарственных препаратов, необходимо организовать и выполнить экспериментальные клинические исследования препаратов, используемых для лечения эймериидозов.

Для изучения динамики Т-лимфоцитов в крови при кокцидиозах норок и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии было проведено одноцентровое проспективное слепое рандомизированное сравнительное исследование в параллельных группах.

Для клинических испытаний необходимо из общей популяции сформировать несколько подопытных групп животных, составляющих предмет исследования и принимающих участие в экспериментах. Чтобы уменьшить разницу между этими подопытными группами, включаемых в исследование, был использован метод стратификации (*stratification*) или стратификационной рандомизации.

На начальном этапе исследования из общей популяции были выделены 58 самцов норок примерно одного возраста ( $86 \pm 12$  дней). В результате внешнего осмотра 2-х животных отбраковали. У оставшихся 56-ти норок, внешне не различимых, взяты пробы фекальных масс для проведения флотационных исследований и объективного выявления зараженных эймеридами животных. Диагноз на кокцидиозы устанавливали стандартными флотационными методами по Фюллеборну, Дарлингу, а также усовершенствованными нами флотационными жидкостями.

Первая группа клинически здоровых животных была контролем. Со второй по шестую группы составляли спонтанно зараженные эймериями и

изоспорами норки. Животные из третьей и пятой групп были обработаны кокцидиостатиком «Стоп-кокцид». Норки из 4-й и 6-й групп получали препарат «Эйметерм 5%». Норкам в 5-й и 6-й групп после обработки кокцидиостатиком задавали иммуномодулирующий препарат растительного происхождения «Фитодок-иммуностим». 7-я группа служила дополнительным контролем и получала плацебо – воду с крахмалом. Сотрудники зверохозяйства, закрепленные за животными, не знали какой препарат получала та или иная группа животных. Взятие крови осуществляли на 10, 20, 40, 80 и 120 дни от начала эксперимента. Диагностическая ценность данного теста значительно возрастает при регулярных повторных анализах, т.е. при оценке напряженности иммунитета в динамике. Поэтому контроль осуществлялся на 10, 20, 40, 80 и 120 день. В дальнейшем они интерпретируются как 1, 2, 3, 4 и 5 опыт (k=5 замеров).

Дополнительно следует установить степень однородности признаков совокупности. Поэтому в таблице 2.2.5.1 приведены расчетные коэффициенты вариации (Cv), которые показывают отклонение от среднего значения рассматриваемого показателя. Чем меньше его величина, тем меньше разброс значений признаков вокруг среднего, тем более однородна совокупность по своему составу и, следовательно, надежна и представительна средняя. В общем массиве полученных показателей вариация составляет 9,3%, для средне-групповых значений она равна 8,7%, средне-фоновых – от 1,4% до 6,9%, а в зависимости от времени вариация колеблется от 1,5% до 5,1%. Таким образом, совокупность показателей абсолютно однородна, средние значения надежны и, значит, их можно использовать для анализа полученных результатов исследования (Таблица 2.2.5.1).

Таблица 2.2.5.1 – Динамика Т-лимфоцитов в крови здоровых норок, больных эймериидозами и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии, %

Группы животных и использованные препараты	Средние фоновые показатели крови	Среднее ± стандартное отклонение (M±m)	Время контроля в днях от начала опытов				
			Коэффициент вариации (Cv)	10	20	40	80
1-я группа – контроль (здоровые животные) n=8	40,8±1,6*	M±m	41,3±0,8*	39,8±2,7	40,9±1,3*	41,1±1,8*	40,8±1,6*
	1,4	Cv	1,5	2,7	1,8	2,4	2,4
2-я группа – больные эймериидозами норки, n=8	31,7±0,73*	M±m	32,3±0,66*	31,8±0,52*	31,7±0,87*	31,5±0,43*	31,2±0,70*
	1,3	Cv	2,1	1,6	2,7	1,4	2,2
3-я группа- больные эймериидозами норки, обработанные Стоп-кокцид, n=8	37,8±2,29	M±m	35,8±1,84	36,2±0,84*	37,3±1,18*	38,6±1,13*	41,1±1,24*
	5,7	Cv	5,1	2,3	3,2	2,9	3,0
4-я группа- больные эймериидозами норки, обработанные Эйметерм 5%, n=8	39,0±2,61	M±m	35,2±1,08*	37,8±0,72*	39,3±0,62*	40,6±1,00*	42,3±1,48*
	6,9	Cv	3,1	1,9	1,6	2,5	3,5
5-я группа больные эймериидозами норки, обработанные Стоп-кокцид и иммуномодулятором, n=8	40,1±2,4	M±m	36,5±0,99*	39,1±0,80*	40,3±0,55*	41,7±0,93*	43,0±0,95*
	6,2	Cv	2,7	2,0	1,4	2,2	2,2
6-я группа больные эймериидозами норки, обработанные Эйметерм 5% и иммуномодулятором, n=8	41,7±2,40	M±m	38,6±1,10*	39,7±0,98*	42,9±0,82*	43,5±1,25*	43,9±1,45*
	5,7	Cv	2,8	2,5	1,9	2,9	3,3
7-я группа- контроль, норки, получающие плацебо, n=8	40,5±1,18*	M±m	40,4±1,25*	39,7±0,54*	41,3±1,0*9	40,5±1,62*	40,8±0,74*
	1,4	Cv	3,1	1,4	2,6	4,0	1,8

\*P≤0,05;

Динамику Т-лимфоцитов в крови при эймериидозах норок и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии можно оценить с помощью корреляционного анализа. Для этого необходимо построить регрессионную модель изменения во времени Т-лимфоцитов в крови каждой группы животных. В данном случае создание модели заключается в подборе графика и уравнения, которые отражают изменение во времени наблюдаемого показателя.

По каждой исследуемой подопытной группе представлены расчетные коэффициенты для построения уравнений регрессии, которые выглядят следующим образом:  $Y=a+b*X$ . Здесь переменная  $Y$ - уровень Т-лимфоцитов в крови животных, который выражается через константу  $a$  и угловой коэффициент  $b$ , умноженный на значение переменной  $X$ -время. Коэффициент корреляции  $R_{xy}$  характеризует наличие линейно связи и отражает степень зависимости между переменными  $Y$  и  $X$ . Чем ближе  $R_{xy}$  к единице, тем теснее связь и ближе зависимость к линейному закону. Для анализа общего качества уравнения линейной регрессии используют множественный коэффициент детерминации  $R^2=R_{xy}^2$ .

Таблица 2.2.5.2 – Результаты регрессионной статистики динамики уровня Т-лимфоцитов в крови при эймериидозах норок и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии

Номер подопытной группы	Коэффициенты				
	свободный	регрессии	корреляции	детерминации	Фишера
	$a$	$b$	$R_{xy}$	$R^2$	$F_{фак} > < F_{таб}$
1	40,70	0,0022	0,17	0,03	1,38<3,18
2	32,10	-0,0082	-0,92	0,84	8,44>3,18
3	35,30	0,0466	0,99	0,99	99,49>3,18
4	36,00	0,0557	0,94	0,88	10,82>3,18
5	37,40	0,0508	0,93	0,86	9,50>3,18
6	39,30	0,0456	0,87	0,75	5,04>3,18
7	40,28	0,005	0,38	0,14	1,55<3,18

Для наглядности на рисунке 2.2.5.1 представлены графики, отражающие динамику изменения уровня Т-лимфоцитов в крови при кокцидиозах норок и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии.

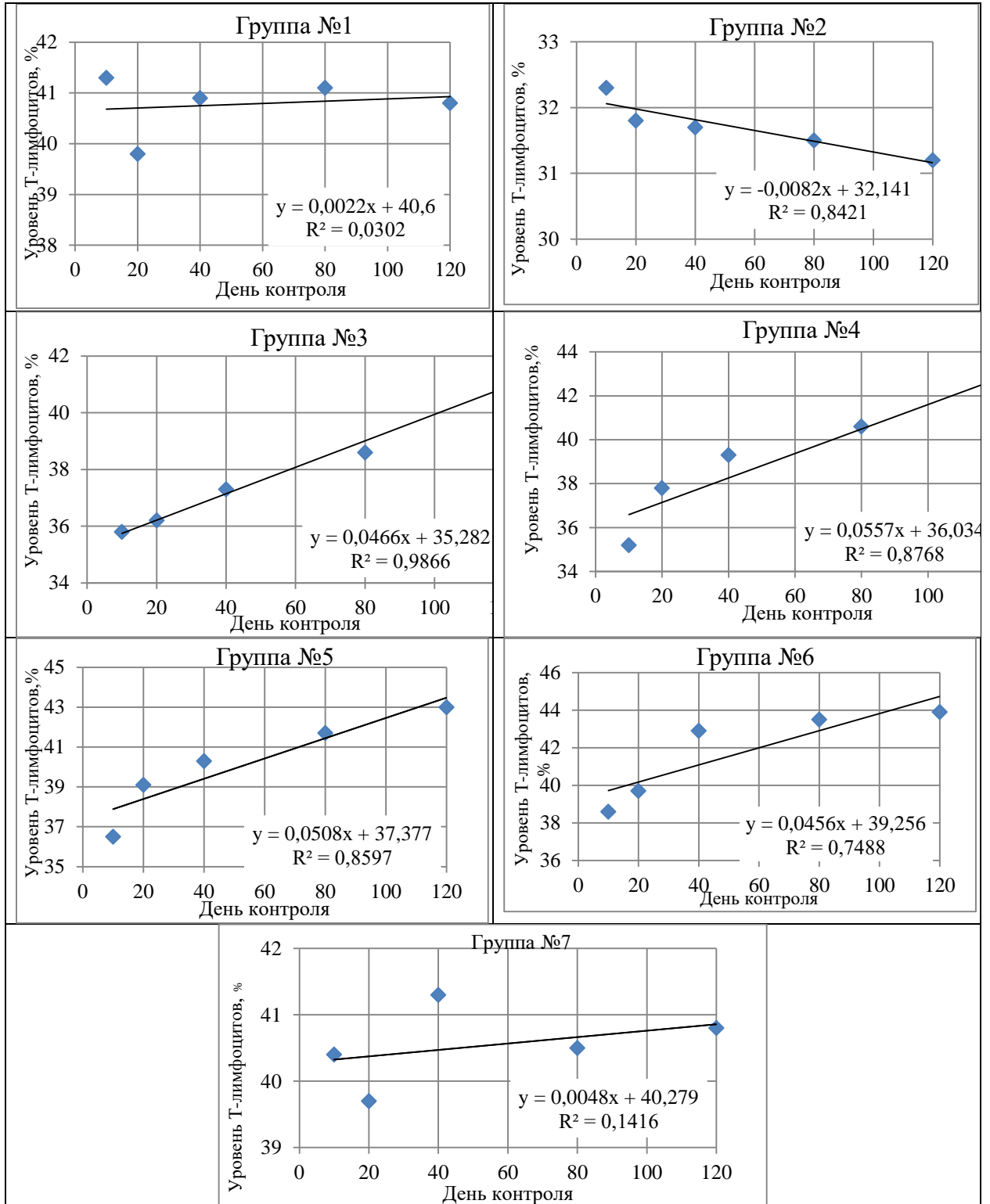


Рисунок 2.2.5.1 – Динамика уровня Т-лимфоцитов в крови здоровых и больных эймериидозами норок на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии

**Выводы.** 1. Анализ полученных зависимостей показывает, что в подопытных группах, представленных клинически здоровыми норками, №1 ( $y_1=0,0022x+40,6$ ) и №7 ( $y_7=0,0048x+40,3$ ) с течением времени не происходит значительных изменений. Это дает возможность предположить, что при соблюдении стандартных условий содержания, когда не происходит спонтанного заражения норок эймеридами, уровень Т-лимфоцитов у них был стабилен на всем протяжении эксперимента.

2. Следует обратить внимание, что группа №2 ( $y_2 = -0,0082x + 32,1$ ) выпадает из общей тенденции. Результирующий показатель снижается во времени с 32,3% до 31,2%, что подтверждают отрицательные значения коэффициентов регрессии ( $b=-0,0082$ ) и корреляции ( $R_{xy}=-0,92$ ). Высокое значение коэффициента детерминации ( $R^2=0,84$ ) свидетельствует о статистической значимости полученных результатов. Напомним, что в контрольной группе №2 находились больные эймеридами норки, которые не получали специфической терапии. В результате в данной подопытной группе наблюдается устойчивая тенденция снижения уровня Т-лимфоцитов, следовательно, состояние их иммунной системы ухудшается.

3. Группы №3 ( $y_3=0,0466x+35,3$ ,  $R^2=0,99$ ), №4 ( $y_4=0,0557x+36,034$ ,  $R^2=0,88$ ), №5 ( $y=0,0514x +37,548$ ,  $R^2=0,8057$ ) и №6 ( $y=0,0456x+39,256$ ,  $R^2=0,7488$ ), в которых норки получали препараты «Стоп-кокцид», «Эйметерм 5%», и эти же препараты с иммуномодулятором «Фитодок иммуностим» имеют четкую зависимость роста уровня Т-лимфоцитов в крови по временной шкале. Чем длительнее процесс испытаний, тем выше значения результирующего показателя. При этом сами группы ранжируются по росту среднего значения этого показателя ( $a_3=35,3$ ;  $a_4=36,0$ ;  $a_5=37,4$ ;  $a_6=39,3$ ).

4. По значениям угловых коэффициентов уравнений регрессии для данных групп ( $b_3=0,0466$ ;  $b_4=0,0557$ ;  $b_5=0,0508$ ;  $b_6=0,0456$ ) можно оценить темпы изменения результирующего показателя во времени. Это даёт

возможность в первом приближение сопоставить и оценить эффективность применяемых препаратов и предложенных схем лечения.

Наиболее высокие темпы роста уровня Т-лимфоцитов наблюдаются в группе №4 ( $b_4=0,0557$ ,  $R_{xy}=0,94$ ;  $R^2=0,88$ ), где больные эймериидозами норки были обработаны препаратом «Эйметерм 5%».

Следующая по темпам роста уровня Т-лимфоцитов, как показал эксперимент, стала группа №5 ( $b_5=0,0508$ ;  $R_{xy}=0,94$ ;  $R^2=0,88$ ), в которой больные эймериидозами норки были обработанные «Стоп-кокцид» и иммуномодулятором.

Применение такого же препарата в группе №3, но без иммуномодулятора, показало более слабые результаты ( $b_3=0,0466$ ;  $R_{xy}=0,99$ ;  $R^2=0,99$ ).

В группе №3 больные эймериидозами норки, обработанные препаратом «Стоп-кокцид», так же, как и животные из подопытной группы №6 обработанные «Эйметерм 5%» и иммуномодулятором показали положительную динамику роста уровня Т-лимфоцитов с почти одинаковым темпом ( $b_{3,4}=0,046 \div 0,047$ ).

Таким образом, анализ полученных результатов клинического исследования показал, что применение специфической и иммунокорректирующей терапии оказывает положительное влияние на динамику уровней Т-лимфоцитов в крови больных эймериидозами норок. Эти изменения за время эксперимента составили:

- в группе №3, где больные эймериидозами норки были обработаны Стоп-кокцид, уровень Т-лимфоцитов вырос с 35,8% до 41,1%;
- в 4-й группе (больные эймериидозами норки, обработанные «Эйметерм 5%») уровень Т-лимфоцитов поднялся с 35,2% до 42,3%;
- в 5-й группе (больные эймериидозами норки, обработанные «Стоп-кокцид» и иммуномодулятором) уровень Т-лимфоцитов изменился с 36,5% до 43,0%;

➤ в 6-й подопытной группе (больные эймериидозами норки, обработанные «Эйметерм 5%» и иммуномодулятором) уровень Т-лимфоцитов вырос с 38,6% до 43,9 %.

Следует отметить, что рост уровня Т-лимфоцитов у больных животных, которые получили назначенную терапию, в конце эксперимента (на 80-120 день) достигли уровня Т-лимфоцитов у здоровых норок [106].

### **2.2.6 Гуморальные факторы защиты и иммунологическая реактивность норок на фоне эймериидозов и специфической терапии**

Иммунный ответ – это сложный многокомпонентный процесс, который происходит по цепной реакции идущей в определенной последовательности и имеет закономерности. Тем не менее он не одинаков у различных животных, может зависеть от ряда факторов: внутренние – порода, возраст и т.д., внешние – иммунодефициты (вторичные). В последние годы уделяется достаточно много внимания вторичным иммунодефицитам, которые возникают у животных из-за различных факторов – бактерий, вирусов, паразитов и т.д. Важную роль в иммунном статусе организма играет естественная резистентность (ЕР). Следует подчеркнуть, что в реакциях ЕР принимают участие активированные макрофаги, естественные киллеры, естественные антитела и ряд гуморальных факторов (лизоцим, пропердин, бета-лизин и т.д.) [101].

Естественную резистентность млекопитающих к патогенным микроорганизмам и чужеродным агентам определяют неспецифические клеточные и гуморальные факторы. К таким факторам относят защитные свойства кожи и слизистых оболочек, бактерицидную активность сыворотки крови, слезной жидкости, слюны, молока и других жидкостей организма, которые обеспечиваются наличием в них неспецифических гуморальных факторов – лизоцима, комплемента, пропердина, интерферона, бета-лизина, естественных антител и других [109, 149, 150].



Несмотря на достаточно широкое освещение в литературе вопросов терапии и профилактики болезней пушных зверей, вопрос роли иммунитета изучен недостаточно [57, 150]. Работ по изучению теоретической и прикладной иммуноморфологии при кокцидиозах норок крайне мало, поэтому, несомненно, исследования в данной области представляют научный интерес.

Для лечения животных, больных эймериидозами, используют импортные и отечественные противопротозойные препараты – «Стоп-кокцид», «Эймерм 5%». Толтразурил в концентрации 50 мг/1мл, входящий в состав данных лекарственных препаратов, является производным триазинтриона, обладает широким спектром антикокцидийного действия на стадиях внутриклеточного развития паразита.

Действие толтразурила основана на блокировании дыхательных ферментов, повреждении митохондрий и оказывает негативное влияние на деление ядра кокцидий, нарушая процесс формирования макрогаметоцитов [108, 187].

Целью данного раздела нашей работы стало изучение гуморальных факторов защиты и иммунобиологическая реактивность норок, зараженных эймериидозами и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии. Данное рандомизированное, слепое, плацебо контролируемое исследование проходило в одном из звероводческих хозяйств в период с 1 августа по 5 сентября 2016 года. В ходе эксперимента были отобраны пробы крови у 56-ти самцов норок, которые затем были разделены на 7 групп (по 8 голов животных в каждой). Первая группа служила контролем, в нее входило клинически здоровое поголовье. В группах со 2-й по 6-ю находились спонтанно зараженные эймериями и изоспорами норки. Диагноз на кокцидиозы установлен стандартными флотационными методами по Фюллеборну, Дарлингу и при помощи усовершенствованных нами методов. Животные из третьей группы и пятой группы были обработаны кокцидиостатиком «Стоп-

кокцид» в дозе 0,4 мл/кг массы животного (по ДВ). Норки из 4-й и 6-й группы получали препарат «Эйметерм 5%» в дозе 0,2 мл/кг массы животного. Норкам в 5-й и 6-й группе после обработки задавали «Фитодок-иммуностим» на 1, 7, 14, 21, 30 дни после введения кокцидиостатика в дозе 1,5 мл на 5 кг массы животного. 7-я группа служила дополнительным контролем и получала плацебо – воду с крахмалом. Особенностью данного исследования являлось то, что все препараты были засекречены, животные случайным образом были поделены на группы, а ветеринарные специалисты, проводящие обработки не знали о том, какой группе животных они дают тот или иной препарат.

При исследовании крови норок с целью определения естественной резистентности определяли бактерицидную, лизоцимную, фагоцитарную активность. При исследовании крови норок с целью определения естественной резистентности, уровень бактерицидной активности устанавливали по методу Емельяненко П.А. (1980), лизоцимную активность определяли по методу Дорофейчук В.Г. (1976), фагоцитарную активность – по показателю завершеного фагоцитоза [7, 150].

Взятие крови проводили до начала эксперимента (фоновые показатели) и на 5, 10, 15, 20 и 30 дни от начала эксперимента, согласно методическим рекомендациям по проведению лабораторных исследований.

По результатам проведенных исследований удалось установить, что при определении бактерицидной активности у животных из контрольной группы (1 группа – незараженные животные). Данный показатель за период исследований изменялся незначительно и находилась на уровне от  $56,8 \pm 0,8$  до  $62,1 \pm 0,8\%$ . В сыворотке крови спонтанно зараженных норок (2 группа) фоновый уровень бактерицидной активности был значительно снижен. У животных контрольных зараженных этот процесс прогрессировал, и описываемый показатель уступал контролю, к 5 дню на 24,11% к 10 дню на 30%, к 20 дню – на 33,87%, к 30 дню – на 35,9% (Таблица 2.2.6.1).

Таблица 2.2.6.1 – Показатели бактерицидной активности сыворотки крови здоровых норок, больных эймериидозами и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии, %

Группы подопытных животных и использованные препараты	Фоновые показатели крови	Сроки исследований в днях от начала опытов				
		5	10	15	20	30
Первая группа – контроль (здоровые животные) n=8	56,8±0,4	56,8±0,8	60,0±0,2	60,8±0,3	61,1±0,8	62,1±0,6
Вторая группа – больные эймериидозами норки, n=8	42,2±0,4	43,1±0,2	42,0±0,4	41,2±0,8	40,4±0,7	39,8±0,5
Третья группа – больные эймериидозами норки, обработанные Стоп-кокцид, n=8	43,4±0,3	47,4±0,6	49,8±0,8	52,2±0,4	54,6±0,3	56,4±0,2
Четвертая группа – больные эймериидозами норки, обработанные Эйметерм 5%, n=8	45,3±0,3	48,9±0,3	49,8±0,6	54,3±0,5	56,1±0,4	57,3±0,2
Пятая группа – больные эймериидозами норки, обработанные Стоп-кокцид и иммуномодулятором, n=8	44,8±0,4	48,9±0,8	55,0±0,2	60,8±0,3	60,7±0,4	61,1±0,8
Шестая группа – больные эймериидозами норки, обработанные Эйметерм 5% и иммуномодулятором, n=8	46,3±0,2	47,7±0,6	54,0±0,3	58,1±0,4	62,2±0,2	60,3±0,4
Седьмая группа – контроль, больные эймериидозами норки, получающие плацебо, n=8	42,8±0,6	42,1±0,2	42,0±0,4	40,6±0,8	40,4±0,7	42,2±0,4

\*P≤0,05; \*\*P≤0,01;

Противококцидийная обработка норок препаратами «Стоп-кокцид» и «Эймерм 5%» способствовала повышению бактерицидной активности сыворотки крови (группа 3 и 4). На 10-й день после обработки данный показатель у животных в обеих группах был одинаков и колебался в районе 49,8%. Этот показатель уступал фоновому показателю (здоровые животные) на 12,32%. В дальнейшем этот показатель повышался. Максимальный уровень бактерицидной активности сыворотки крови норок из этих двух групп был зарегистрирован на 30-й день эксперимента. В 3-й группе он превысил фоновое значение на 29,9%, но уступал здоровым контрольным норкам на 0,7%. В 4-й группе он превысил фоновый показатель на 26,5%, а по отношению к фоновому показателю здоровых животных превышал его на 0,88%. К 15 дню 16 животных из 18 были свободны от паразитов.

Применение препарата «Фитодок-иммуностим» на фоне обработки животных кокцидиостатиками (5 и 6 группа) способствовала выраженной активизации бактерицидной активности сыворотки крови норок, у которых она максимально приблизилась к контрольным значениям здоровых животных, а уже через 10 дней после начала эксперимента у всех животных в этих подопытных группах перестали выделяться ооцисты.

В 7-й группе у животных, получавших плацебо в качестве лечения, показатели оставались стабильными, не менялись и были аналогичны с показателями животных из второй группы (зараженные животные) [101].

Далее нами изучено содержание лизоцима в сыворотке крови у этих же норок. Лизоцим обладает противовоспалительными свойствами, способствует процессам регенерации ткани, стимулирует фагоцитоз, активизирует продукцию нормальных антител и обладает антибактериальным действием. Согласно полученных нами данных (Таблица 2.4.4.2) по активности лизоцима в крови у норок мы установили снижение данного показателя у норок зараженной группы (группа 2) и увеличение в 3 и 4 группах, обработанных кокцидиостатиками: «Стоп-кокцид» и «Эймерм 5%».

Таблица 2.2.6.2 – Активность лизоцима в сыворотке крови норок на фоне специфической и иммуномодулирующей терапии (\* $P \leq 0,05$ )

Группы подопытных животных и использованные препараты	Фоновые показатели, %	Дни исследований				
		5	10	15	20	30
Первая группа – контроль (здоровые животные) n=8	8,4±0,9	8,2±0,7	8,4±0,5	8,2±0,6	8,6±0,4*	8,8±0,9
Вторая группа – больные эймериидозами норки, n=8	7,2±0,7	7,0±0,4	7,0±0,7	6,9±0,4	6,6±0,7	6,4±0,2*
Третья группа – больные эймериидозами норки, обработанные Стоп-кокцид, n=8	6,8±0,2*	7,2±0,8	7,1±0,8	7,4±0,6	7,8±0,9	7,9±0,8
Четвертая группа – больные эймериидозами норки, обработанные Эйметерм 5%, n=8	6,9±0,9	7,3±0,6	7,7±0,4	7,6±0,8	7,6±0,5	8,2±0,6
Пятая группа – больные эймериидозами норки, обработанные Стоп-кокцид и иммуномодулятором, n=8	7,0±0,6	8,0±0,9	8,4±0,6	8,2±0,7	8,8±0,6	8,4±0,7
Шестая группа – больные эймериидозами норки, обработанные Эйметерм 5% и иммуномодулятором, n=8	7,1±0,4	8,2±0,9	8,6±0,4*	8,8±0,6	8,9±0,2*	9,1±0,9
Седьмая группа – контроль, больные эймериидозами норки, получающие плацебо, n=8	7,4±0,8	7,3±0,1*	7,6±0,2*	7,7±0,4	7,3±0,3*	7,8±0,6

Наилучшие результаты по лизоциму получены в сыворотке крови норок 5-й и 6-й групп, которым после обработки кокцидиостатиками вводили иммуномодулятор растительного происхождения «Фитодок-иммуностим». В этих группах активность лизоцима составляла к концу эксперимента  $8,4 \pm 0,7$ - $9,1 \pm 0,9\%$  против  $8,6 \pm 0,9\%$  у здоровых норок и  $6,4 \pm 0,2\%$  у зараженных.

Показатели фагоцитоза являются чувствительным индикатором защитных реакций организма. Фагоцитоз играет существенную роль в создании антимикробной устойчивости организма, в частности, известно участие фагоцитов в воспалении кишечника [55, 150, 223]. Нами изучена фагоцитарная активность крови норок при испытании кокцидиостатиков и иммуномодулятора (Таблица 2.2.6.3).

Анализируя полученные данные по фагоцитарной активности в крови норок отмечаем, что у зараженных животных в течение всего периода исследований идет снижение данного показателя на 12,2% к концу опыта. У норок, получавших специфическую терапию (группы 3 и 4) фагоцитарная активность повысилась на 17,6%, а при комплексном лечении на 25% (группы 5 и 6).

Таблица 2.2.6.3 – Фагоцитарная активность крови норок на фоне введения кокцидиостатиков и иммуномодулятора

Группы подопытных животных и использованные препараты	Фоновые показатели, %	Дни исследований				
		5	10	15	20	30
1-я группа – контроль (клинически здоровые животные) n=8	57,8±9,4	58,2±9,4	56,4±7,9	53,8±5,7	55,6±8,4	57,4±1,2
2-я группа – больные эймериидозами норки, n=8	42,4±2,8	44,6±7,2	44,8±2,6	46,4±9,2	45,8±7,3	45,6±9,4
3-я группа – больные эймериидозами норки, обработанные «Стоп-кокцид», n=8	40,1±10,2	55,4±3,8	54,2±3,6	51,8±8,8	49,4±6,6	47,8±9,7
4-я группа – больные эймериидозами норки, обработанные «Эйметерм 5%», n=8	39,4±6,4	57,2±7,8	53,4±9,2	51,3±7,3	58,8±4,4	57,1±8,2
5-я группа – больные эймериидозами норки, обработанные «Стоп-кокцид» и иммуномодулятором, n=8	38,6±9,8	49,2±7,1	48,4±7,7	57,2±1,4	56,8±5,6	48,4±2,9
6-я группа – больные эймериидозами норки, обработанные «Эйметерм 5%» и иммуномодулятором, n=8	40,8±6,9	46,6±5,4	44,4±8,2	45,6±2,7	49,2±1,9	48,2±7,2
7-я группа – контроль, больные эймериидозами норки, получающие плацебо, n=8	52,0±7,4	50,1±6,8	48,8±7,2	50,1±2,4	48,8±2,7	49,9±6,4

**Выводы.** В результате проведенных исследований, было выяснено, что у здоровых животных бактерицидная активность за период исследований изменялась незначительно и находилась на уровне 56,8-62,1±0,8%. У больных эймеридозами норок фоновый уровень бактерицидной активности был значительно понижен и составлял – 42,2±0,4. Противоккокцидийная обработка норок препаратами «Стоп-кокцид» и «Эймертерм 5%» способствовала повышению бактерицидной активности сыворотки крови. Обработка животных препаратом иммуномодулятором «Фитодок-иммуностим» на фоне обработки животных кокцидиостатиками способствовала выраженной активизации бактерицидной активности сыворотки крови норок, у которых она максимально приблизилась к контрольным значениям здоровых животных – 60,73±0,4. У животных, получавших плацебо в качестве лечения, показатели оставались стабильными, не менялись и были сходны с показателями больных кокцидозами животных.

Разработана эффективная схема лечения норок при кокцидозах и изучено влияние препаратов на естественную резистентность. Установлено, что противоккокцидийная обработка норок препаратами «Стоп-кокцид» и «Эймертерм 5%» способствовала повышению фагоцитарной, лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови (группа 3 и 4). На 10-й день после обработки данный показатель у животных в обеих группах был одинаков и колебался в районе 49,8% по бактерицидной активности. Эти показатели уступали фоновому показателю (здоровые животные) на 12,32%. В дальнейшем этот показатель повышался. Максимальный уровень показателей неспецифического иммунитета сыворотки крови норок двух групп был зарегистрирован на 30-й день эксперимента. В 3-й группе он превысил фоновое значение на 29,9%, но уступал здоровым контрольным норкам на 0,7%. В 4-й группе он превысил фоновый показатель на 26,5%, а по отношению к фоновому показателю здоровых животных превышал его на 0,88%.



Проведенная терапия иммуномодулятором «Фитодок-иммуностимум» на фоне обработки животных кокцидиостатиками (5 и 6 группа) способствовала выраженной активизации фагоцитарной, лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови норок, у которых она не только максимально приблизилась к контрольным значениям здоровых животных, но и превышала их.

Изучена естественная резистентность норок при кокцидиозах и на фоне специфической иммунокорректирующей терапии. Установлено, что обработка животных кокцидиостатиками «Стоп-кокцид» и «Эймерм 5%» способствует повышению естественной резистентности норок, а при обработке животных препаратами «Стоп-кокцид» и «Эймерм 5%» с иммуномодулятором по отработанной схеме не только повышает естественную резистентность, но и способствует сохранению животных. Иммуномодулирующая терапия, проведенная после противоккокцидийной обработки норок, способствовала повышению естественной резистентности зверей и повышению эффективности противоккокцидийного препарата.

Таким образом, нами проведены многолетние наблюдения за показателями иммунитета пушных зверей, больных эймериидозами и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии. Теоретическая значимость полученных результатов несомненна. Их практическая реализация открывает перспективы существенного повышения эффективности мер профилактики и борьбы с паразитарными болезнями пушных зверей. Полученные нами данные, были использованы в дальнейших наших исследованиях и разработке комплекса мероприятий, направленных на борьбу с инвазионными болезнями пушных зверей.

### **2.2.7 Динамика клеточных факторов иммунной системы песцов на фоне микстинвазии**

Изменения со стороны клеток крови, в частности тех, которые отвечают за иммунитет и иммунный статус организма, отражают полноту патологического воздействия эндопаразитов на организм животного, и являются показателями, характеризующими тяжесть и течение болезни [41, 42]. Ранее нами было выяснено, что зачастую инвазионные болезни пушных зверей протекают в ассоциации друг с другом, а также с другими организмами, населяющими желудочно-кишечный тракт животных. Несмотря на то, что они оказывают практически одинаковое патологическое воздействие на организм и имеют общность патогенетических факторов, вызываемых возбудителями инвазионных и инфекционных заболеваний, при развитии гельминтозов имеется ряд существенных особенностей, которые определяют развитие патогенеза, течение болезни и иммунного ответа, зараженного ими животного.

Российскими и иностранными учёными у разных видов животных ранее было установлено, что при микстинвазиях происходит подавление иммунной системы (Т- и В-лимфоцитов) [30, 58, 74, 77]. Тем не менее, роль иммунной супрессии в организме хозяина весьма неоднозначна. Так, с одной стороны супрессия Т-лимфоцитов контролирует устойчивость взаимоотношений паразит-хозяин, однако в отсутствие контроля за иммунным ответом на внедрение гельминтов или других агрессивных инвазионных болезней в организме хозяина, начинает развиваться гиперреакция или чрезмерная воспалительная реакция, способная нанести вред организму, повреждая его собственные ткани вокруг этого очага. По мнению, Даугалиевой Э.Х. (1981) «увеличение Т-супрессоров является одним из механизмов иммунорегуляции, ограничивающим продукцию антител и избыточное образование циркулирующих иммунных комплексов, которые играют большую роль в формировании иммунопатологических процессов при микстинвазиях». Развитие инвазионного процесса при микстинвазиях вызывает и

сопровождается снижением уровня неспецифической резистентности организма хозяина, наблюдается выраженный процесс ингибирования лизоцимной комплементарной активности сыворотки крови и развитие вторичных иммунодефицитов.

Целью данного раздела нашей работы стало изучение развития патологического процесса у песцов, вызванного обнаруженной ранее микстинвазией эймериидозами и гельминтозами, а также выявить закономерности динамики клеточных факторов иммунной системы при данном состоянии.

В эксперименте участвовали только животные с микстинвазией, у которых была обнаружена инвазия одновременно простейшими (*I. vulpina*) и гельминтом (*T. leonina*), а контролем в ходе всего опыта служили клинически здоровые животные. Подопытных песцов разделили на три группы по 10 животных в каждой, которые были сформированы по методу сбалансированных групп-аналогов.

Во вторую группу входили песцы, зараженные микстинвазией *I. vulpina* + *T. leonina*, а в третью – зараженные этими паразитами песцы, но обработанные препаратами «Стоп-кокцид» + «Фебтал грунулы», анализ крови проводили у животных из этой группы на следующий день после дачи препаратов.

В процессе развития патологических процессов, вызванных микстинвазией, в организме песцов происходили изменения в клеточном иммунитете, помимо этого нам удалось установить влияние комбинированного лечения на иммунный ответ.

Результаты, полученные в ходе эксперимента представлены в таблице 2.2.7.1.

Таблица 2.2.7.1 – Динамика клеточных факторов иммунной системы песцов на фоне микстинвазии, %

Группы подопытных животных	Популяции лимфоцитов					
	Т -Е-РОК лимфоциты общие	Т -Е-РОК лимфоциты активные	Т-хелперы (Тх)	Т-супрессоры (Тс)	В-лимфоциты	Иммуннорегуляторный индекс (Тх/Тс)
1-я группа - контроль (клинически здоровые животные) n=10	42,9±1,3*	14,3±0,8	24,2±0,6*	19,8±2,1	2,5±0,4	1,22
2-я группа – песцы, зараженные <i>I. vulpina</i> + <i>T. leonina</i> , n=10	47,3±0,6**	16,8±1,1	18,9±0,9*	27,5±2,2	4,4±0,3	0,68
3-я группа – зараженные песцы, обработанные затем препаратами «Стоп- кокцид» + «Фебтал грунулы», n=10	38,8±0,8*	11,6±0,5*	26,7±1,7	11,2±0,6*	2,9±0,3	2,38

\*P≤0,05; \*\*P≤0,01;

В ходе эксперимента было установлено, что у зараженных животных общее количество лимфоцитов достоверно ( $P \leq 0,01$ ) было на 10,2% выше, чем у животных в контрольной группе, однако мы обнаружили интересную тенденцию к резкому снижению общего количества лимфоцитов у больных *I. vulpina* + *T. leonina* песцов, так этот показатель составил  $38,8 \pm 0,8$  ( $P \leq 0,05$ ), что на 18% ниже, чем у второй подопытной группы и на 9,5% ниже, чем у животных из контрольной группы. Примерно такая же картина наблюдалась и в динамике активных лимфоцитов.

Динамика Т-хелперов: у зараженных песцов данный показатель составил  $18,9 \pm 0,9$  ( $P \leq 0,05$ ), что на 21,9% меньше, чем в контроле –  $24,2 \pm 0,6$  ( $P \leq 0,05$ ). Однако на следующий день после дачи противопаразитарных препаратов данный показатель был на 10,3% выше, чем у клинически здоровых животных.

Динамика Т-супрессоров, напротив, была прямо противоположной динамике Т-хелперов. Так, у зараженных животных из второй группы он на 38,8%, был выше, чем у песцов из контроля. А на фоне специфической терапии данный показатель достоверно снижался до уровня  $11,2 \pm 0,6$  ( $P \leq 0,05$ ), что на 40,7% ниже чем у животных из 2-й группы.

Динамика В-лимфоцитов во 2-й группе оказалась в 1,76 раза выше, чем у животных из контроля, в 3-й же группе этот показатель был сопоставим с контрольными значениями –  $2,9 \pm 0,3$ , против  $2,5 \pm 0,4$  в контроле.

Исследование показало, что на фоне микстинвазии *I. vulpina* + *T. leonina* у песцов наблюдается выраженная иммуносупрессия, при специфической терапии она не только не выправлялась, а наоборот становилась более выраженной, что говорит о том, что противопаразитарные препараты оказывают иммуносупрессивный характер на организм песцов.

Таким образом, при протозоозах и гельминтозах образуется иммунитет, развивающийся под воздействием клеточных и гуморальных факторов, напряженность его зависит от вида возбудителя, физиологического состояния пушных зверей. Все это влияет на интенсивность эпизоотического процесса и на отдельные его звенья, что необходимо учитывать при планировании мероприятий по профилактике паразитозов и борьбе с ними.

### **2.2.8 Клинические признаки и патологоанатомические изменения при микстинвазии у песцов и серебристо-черных лисиц**

Результаты этого этапа исследования опубликованы в статье «Клинические признаки и патологоанатомические изменения при микстинвазиях у песцов и лисиц» [98].

Нами было установлено, что в обследованных зверохозяйствах в Ленинградской области, среди песцов и серебристо-черных лисиц регистрируются кишечные паразитозы, протекающие как микстинвазии. При этом эти болезни чаще всего протекают подостро или хронически, но при высокой ИИ, а также у молодняка в возрасте от 1-6 месячного возраста может наблюдаться острое течение изоспороза, эймериоза, токсокароза, токскарриоза и др. болезней, а также их ассоциаций.

Выраженность клинических проявлений и патологического воздействия на организм животных носит индивидуальный характер и зависит от ряда факторов: резистентности организма и его иммунного статуса. Помимо этого, приведенные выше данные указывают, что ряд препаратов, используемых в зверохозяйствах в качестве специфической терапии, также обладает иммуносупрессивным характером. Все это необходимо учитывать при разработке лечебно-профилактических мероприятий.

Эймериидозы и гельминтозы, а также их ассоциации у песцов и серебристо-черных лисиц протекают с характерными клиническими признаками: снижение аппетита и упитанности, угнетение и диарея, при этом фекальные массы темного цвета, с гнилостным запахом и примесью слизи и крови. При дальнейшем клиническом осмотре больных животных обнаруживаются анемия слизистых оболочек и взъерошенный тусклый мех (Рисунок 2.2.8.1).



Рисунок 2.2.8.1 – Черно-бурая лисица, больная токсамаскариозом и токсокарозом  
(оригинал)

У больных лисиц и песцов нарушается процесс линьки и обрастания новым мехом, снижается иммунитет и сопротивляемость к инфекционным болезням, все это приводит к отходу молодняка.

При вскрытии павших и вынужденно убитых животных, больных эймериидозами и гельминтозами, отмечался катарально-геморрагический и катаральный энтерит, серозный лимфаденит, дистрофия печени, почек и селезенки, а также анемия и обезвоживание организма. При этом патологический материал отправлялся врачами ферм в областную лабораторию, где проводились бактериологические и вирусологические исследования. Однако результат во всех пробах был отрицательным, что исключает инфекционную этиологию патологоанатомических изменений. И дает нам право интерпретировать результаты вскрытия и патологоанатомические изменения, как вызванные инвазионным началом.

На вскрытии обнаружена картина катарально-геморрагического воспаления, при котором слизистая оболочка тощей и слепой кишки была утолщена с многочисленными точечными и полосчатыми кровоизлияниями, ярко красного цвета. При микроскопировании соскобов со слизистой оболочки слепой кишки и окрашивания их по Романовскому-Гимзе, были обнаружены эндогенные стадии эймериид на разных стадиях развития, а в просвете тонкого кишечника – единичные гельминты, по морфологии это оказались токсаскарисы (самки и самцы), они не были прикреплены к стенке кишки, просто лежали в его просвете.

При гистологическом исследовании, была обнаружена пролиферация бокаловидных клеток (Рисунок 2.2.8.2), геморрагии (Рисунок 2.2.8.3), а также усиленная митотическая активность и деформация энтероцитов в разной степени выраженности. В эпителиальных клетках слепой кишки были обнаружены паразитиформные вакуоли кокцидий (Рисунок 2.2.8.4).

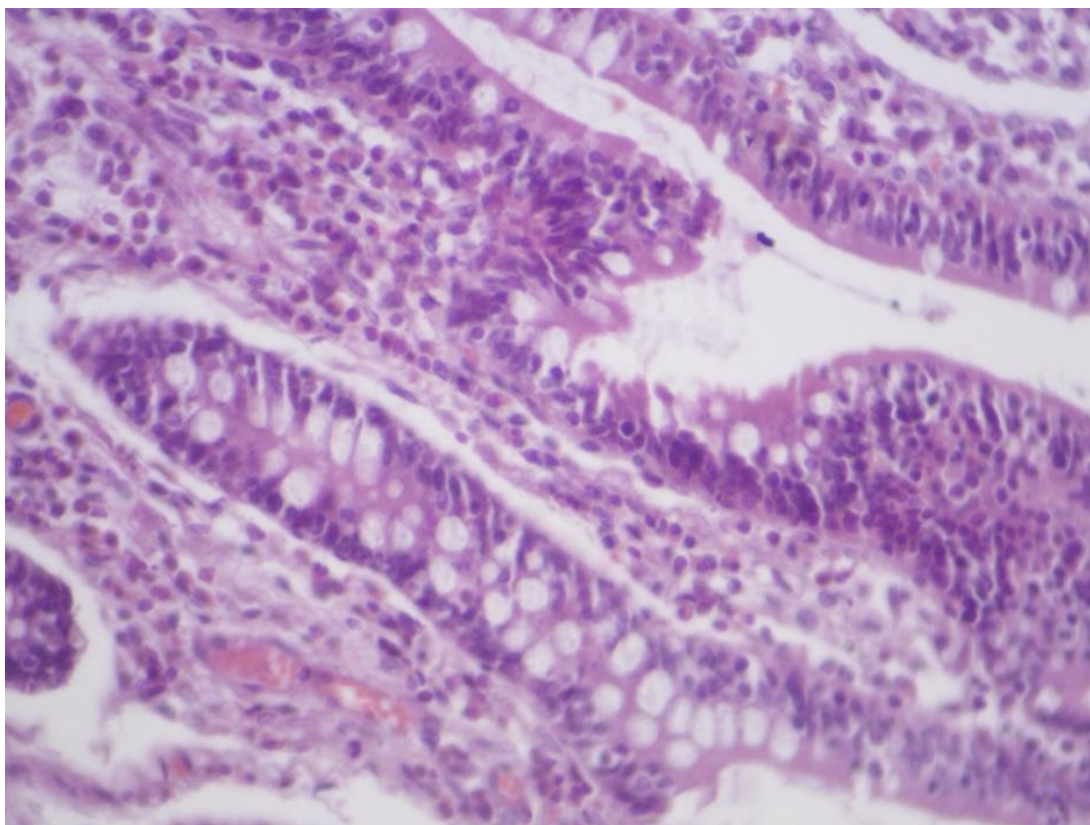


Рисунок 2.2.8.2 – Гиперплазия бокаловидных клеток в области основания ворсинок тонкого кишечника (окр.: гематоксилин и эозин, ув.: x40) (оригинал)



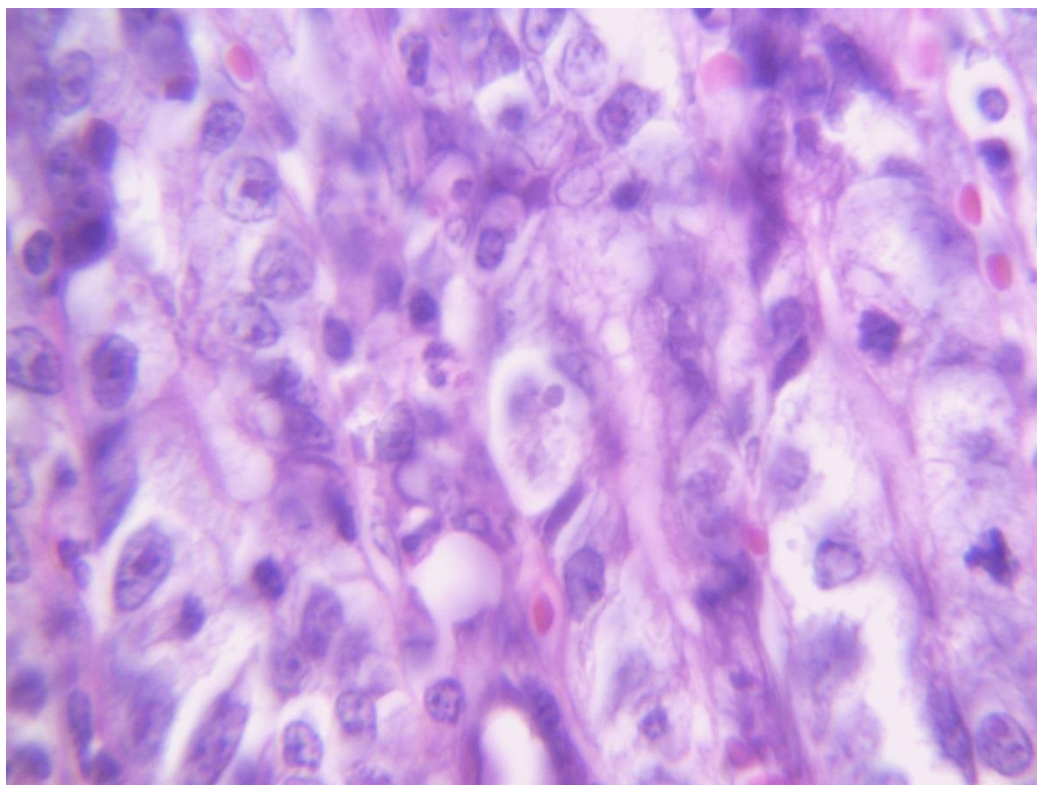


Рисунок 2.2.8.3 – Эндогенная стадия эймерий в собственной пластине слизистой оболочки стенки кишечника (окр.: гематоксилин и эозин, ув.: x100) (оригинал)

**Вывод.** Таким образом, микстинвазии эймериидозами и гельминтозами у взрослых песцов и серебристо-черных лисиц протекают подостро и хронически, часто субклинически, а у молодняка в возрасте 1-6 мес. остро и характеризуются снижением аппетита, активности зверьков, общей анемией, диареей с примесью слизи и крови, а также истощением, и ухудшением качества меха. При вскрытии обнаружены патологоанатомические изменения, характеризующиеся катарально-геморрагическим энтеритом, дистрофией паренхиматозных органов. А при гистологическом исследовании пораженного участка слепой кишки была обнаружена пролиферация бокаловидных клеток, при этом ворсинки кишечника были с выраженным кровенаполнением сосудов, а также отмечалась усиленная митотическая активность. При этом были обнаружены паразитиформные вакуоли, что указывает на эндогенные стадии развития простейших [98].

## 2.2.9 Изучение патоморфологических изменений в тонком кишечнике норок при эймериидозах

Результаты текущего этапа исследования опубликованы в статье «Особенности диагностики и патоморфологии эймериидозов норок в зверохозяйствах Северо-Западного региона Российской Федерации» [100].

В ходе обследования одного из зверохозяйств ежедневно отмечался небольшой процент отхода животных, в том числе из подопытной группы (животных больных эймериидозами). Их трупы были истощенными, обезвоженными, не пигментированные слизистые оболочки анемичными, у всех отмечалась некоторая особенность: при пальпации живота консистенция была тестообразная, в области анального отверстия мех был испачкан фекальными массами.

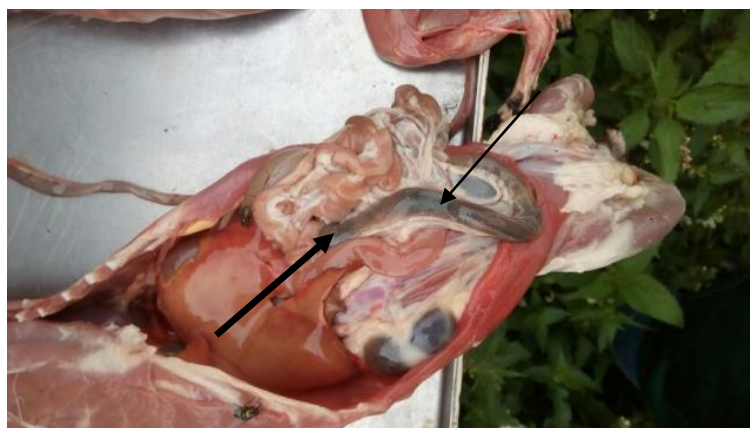


Рисунок 2.2.9.1 – Внешний осмотр содержимого брюшной полости (видны геморагии в кишечнике) (оригинал)



Рисунок 2.2.9.2 – Фрагмент геморрагически воспаленного тонкого кишечника павшей норки (оригинал)

При вскрытии павших и подвергнутых эвтаназии больных эймериидозами норок в брюшной полости наблюдалось небольшое количество жидкости светло-желтого (соломенного) цвета. При вскрытии кишечника геморрагическое воспаление наблюдалось на всем его протяжении. В двенадцатиперстной, тощей и слепой кишках слизистая оболочка была складчатая с точечными и полосчатыми кровоизлияниями (Рисунок 2.2.9.2). Патологоанатомическая картина указывала на катарально-геморрагический энтерит. В мазках, сделанных из соскобов со слизистой оболочки кишечника и окрашенных по Романовскому-Гимзе, обнаружили меронты и мерозоиты эймериид. В толстом кишечнике были обнаружены скопления воздуха и химуса вперемешку с прожилками крови и слизью.

#### **2.2.10 Изучение патогистологических изменений в тонком кишечнике норок при кокцидиозах**

Результаты текущего этапа исследования опубликованы в статье «Особенности диагностики и патоморфологии эймериидозов норок в зверохозяйствах Северо-Западного региона Российской Федерации» [100].

Несмотря на достаточно низкую степень инвазии и не ярко выраженную клиническую картину эймериидозов у взрослых норок при гистологическом исследовании препаратов кишечника, установили ряд патологических процессов, происходящих в кишечной стенке больных животных.

При низкой ИИ основные патоморфологические поражения отмечались только в эпителиальной пластине слизистой оболочки кишечника.

При высокой ИИ наблюдалось поражение всех слоев слизистой оболочки кишечника, проявляющийся во выраженном диффузном, лимфоплазмоцитарном энтерите. Кровенаполнение всех оболочек стенки кишки, в подавляющем большинстве, характеризовалось как умеренное, однако были обнаружены участки с выраженной капиллярной сетью (Рисунок 2.2.10.1 и 2.2.10.2).



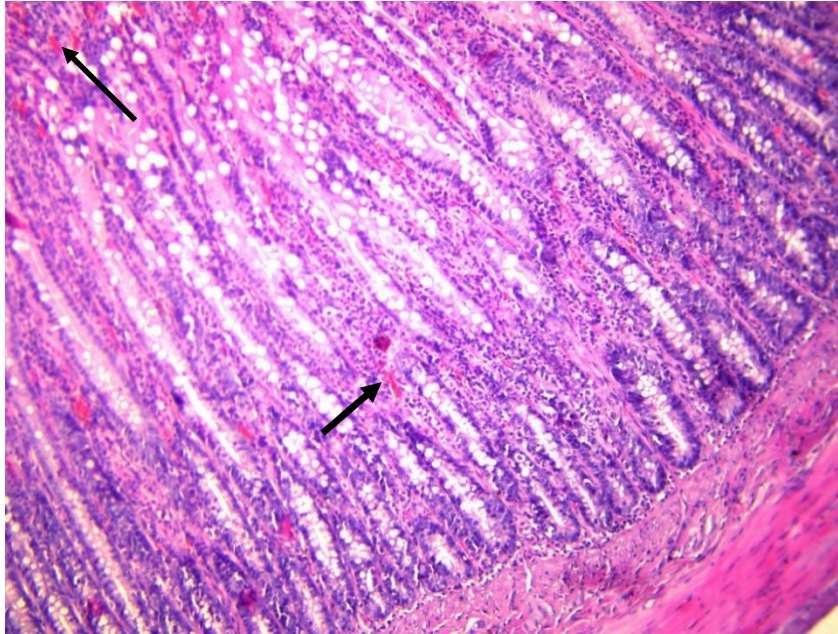


Рисунок 2.2.10.1 Участок тонкого кишечника со средне выраженным кровенаполнением сосудов и клеточной инфильтрацией (окр.: гематоксилин и эозин, ув.: x40) (оригинал)

В большинстве случаев выявлена распространенная полиморфноклеточная инфильтрация собственной пластинки слизистой оболочки с распространением на мышечную пластинку слизистой оболочки и выходом групп клеток с мелкоочаговым их скоплением в подслизистой основе.

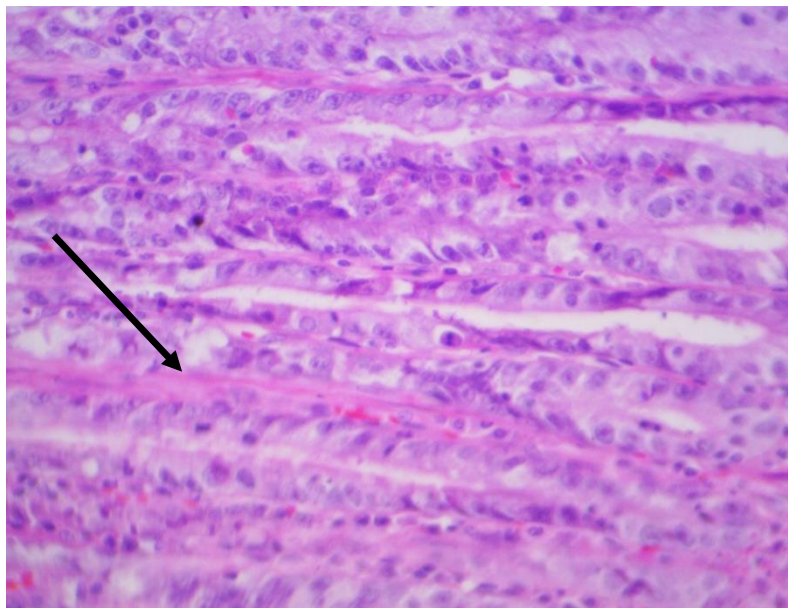


Рисунок 2.2.10.2 – Ворсинки кишечника с выраженным кровенаполнением сосудов (окр.: гематоксилин и эозин, ув.: x100) (оригинал)

В эпителиальной пластине установлена усиленная митотическая активность энтероцитов и пролиферация бокаловидных клеток на всем протяжении с разной степенью выраженности (Рисунок 2.2.10.3).

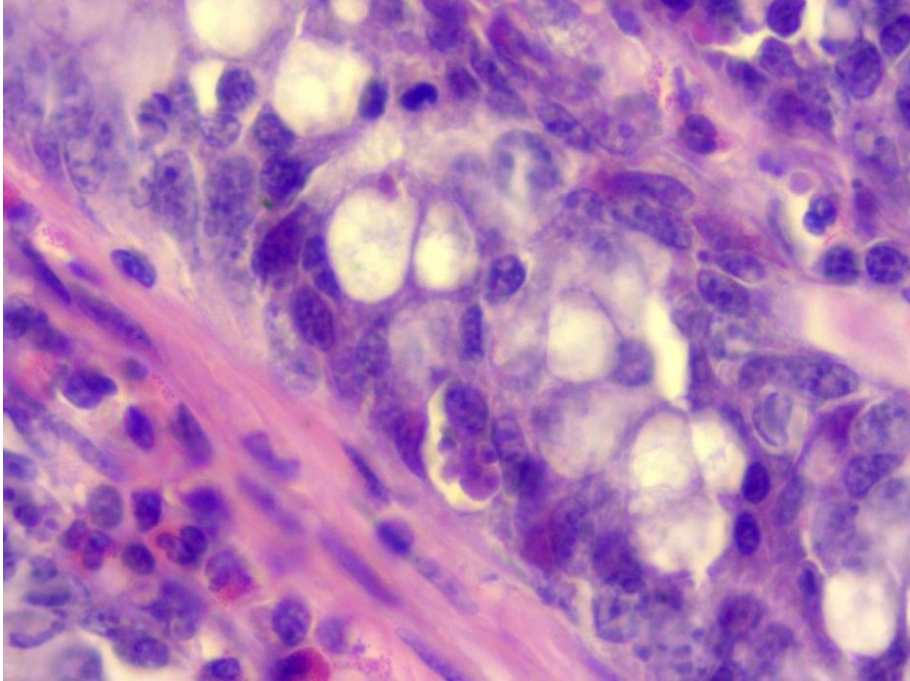


Рисунок 2.2.10.3 – Митотическая активность энтероцитов и пролиферация бокаловидных клеток (окр.: гематоксилин и эозин, ув.: x400) (оригинал)

Эпителиальные клетки зачастую содержали кариолитические, кариоректические и пикнотические ядра, что указывало на наличие некротических процессов. В эпителии выявлены округлые или яйцевидные нехарактерные включения 12-25 мкм в диаметре, содержащие базофильные микрогаметы эймерий. При помощи ультраструктурного исследования внутри паразитиформной вакуоли обнаружили кокцидий на разных стадиях эндогенного развития (Рисунок 2.2.10.4 (а, б)).



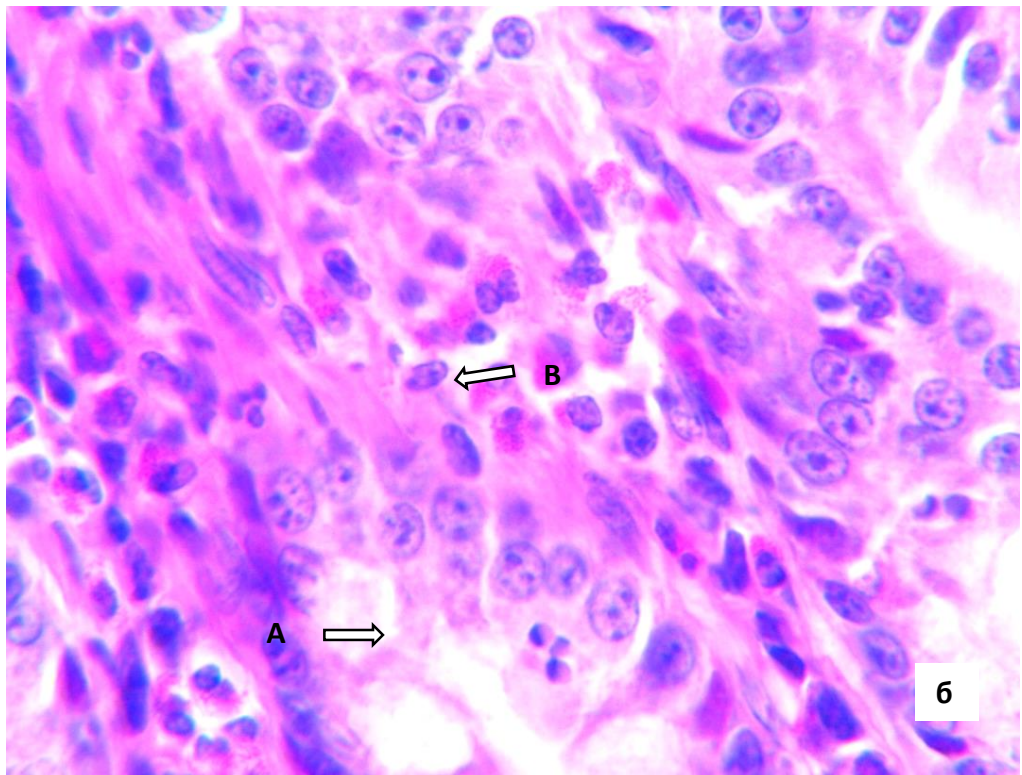
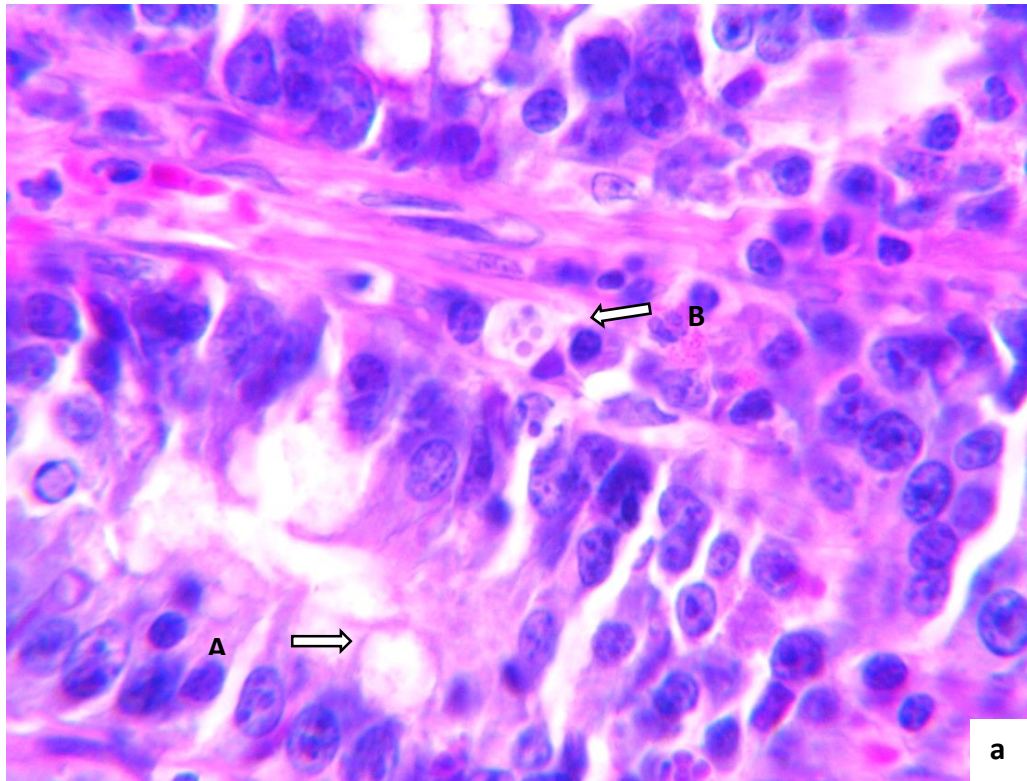


Рисунок 2.2.10.4 – (а, б) А - эндогенные стадии кокцидий, В – скопления эозинофилов (окр.: гематоксилин и эозин, ув.: x400) (оригинал)

В однослойном каемчатом эпителии слизистой оболочки тонкого кишечника наблюдали десквамацию и некроз покровного эпителия, которые

распространялись в глубину крипт. В просвете кишечника скапливалось большое количество клеток слущенного эпителия.

Обнаружены небольшие участки кишечника, в которых наблюдалась потеря поверхностных эпителиальных клеток и атрофия ворсинок, что, возможно, было связано с развитием меронтов (Рисунок 2.2.10.5) и дальнейшим высвобождением из них мерозоитов, что привело к разрушению клеток.

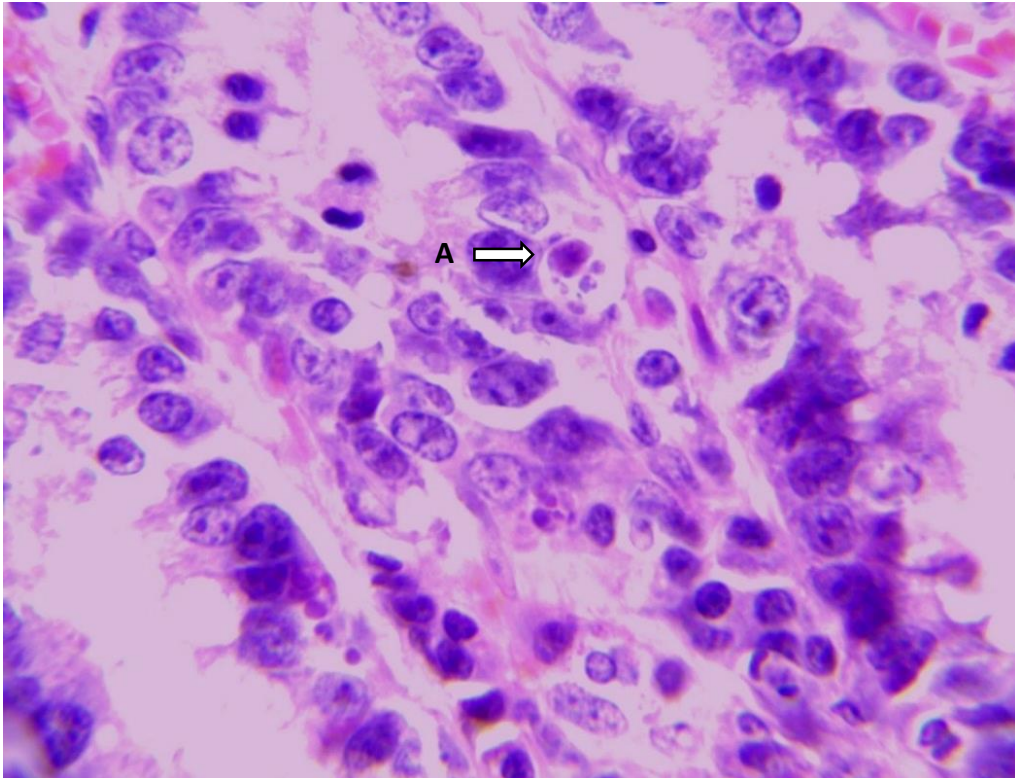


Рисунок 2.2.10.5 – Меронт кокцидий (А) в разрушенных ворсинках кишечника.

(окр.: гематоксилин и эозин, ув.: x400) (оригинал)

Собственная пластинка была инфильтрирована лимфоцитами, плазмоцидами, нейтрофилами и эозинофилами (Рисунок 2.2.10.6). Особенно большое скопление эозинофилов отмечалось вокруг очагов поражения эндогенных стадий развития эймерий.

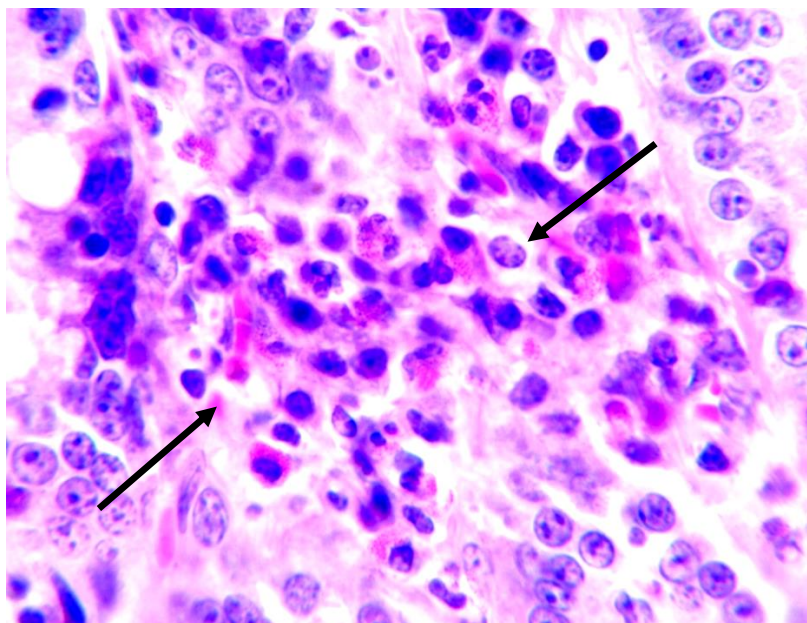


Рисунок 2.2.10.6 – Эозинофилия в слизистой кишечника  
(окр.: гематоксилин и эозин, ув.: x400) (оригинал)

В некоторых полях зрения в собственной пластинке слизистой оболочки отмечались мелкоочаговые скопления клеток, с преобладанием эозинофилов, нейтрофилов, лимфоидных клеток и гистиоцитов.

**Выводы.** При вскрытии павших и вынужденно убитых животных отмечался катарально-геморрагический энтерит, однако слизистая оболочка тонкой кишки была более складчатой с точечными и полосчатыми кровоизлияниями. В мазках, сделанных из соскобов со слизистой оболочки кишечника и окрашенных по Романовскому-Гимзе, обнаружили меронты и мерозоиты эймериид. В толстом кишечнике отмечалось скопления воздуха и химуса с прожилками крови и слизи.

При гистологическом исследовании препаратов различных участков кишечника от зараженных эймериидами животных было обнаружено, что при низкой ИИ (у взрослых норок) основные патоморфологические изменения регистрировались на небольших участках и наблюдались, в основном, только в эпителиальной пластине слизистой оболочки кишечника. При высокой ИИ отмечалось поражение всех слоев слизистой кишечника, проявляющееся выраженным диффузным, подострым лимфоплазмоцитарным энтеритом.



В большинстве гистосрезов выявлена распространенная полиморфная клеточная инфильтрация собственной пластинки с распространением на мышечную пластинку слизистой оболочки и выходом групп клеток с мелкоочаговым скоплением в подслизистой основе. При этом в эпителиальной пластине наблюдалась усиленная митотическая активность энтероцитов и пролиферация бокаловидных клеток с разной степенью выраженности на всем протяжении.

В эпителии были выявлены округлые или яйцевидные включения 12-25 мкм в диаметре, содержащие базофильные микрогаметы эймерий. Внутри паразитифорной вакуоли обнаружили кокцидий на разных стадиях эндогенного развития. В однослойном каемчатом эпителии слизистой оболочки тонких кишок наблюдали десквамацию и некроз покровного эпителия, которые распространялись в глубину крипт. В просвете кишечника скапливалось большое количество клеток слущенного эпителия.

Помимо этого, были обнаружены небольшие участки кишечника, в которых наблюдалась потеря поверхностных эпителиальных клеток и атрофия ворсинок, что возможно было связано с развитием меронтов и дальнейшим высвобождением из них мерозоитов, что привело к разрушению клеток.

Нам удалось установить, что заражение животных кокцидиями как в виде моноинвазии, так и ассоциаций паразитов, даже при достаточно низкой степени инвазии сопровождается нарушением целостности слизистой оболочки кишечника на гистологическом уровне, а при высокой ИИ в процесс полиморфной клеточной инфильтрации вовлекается как собственная и мышечная пластины, так и подслизистая основа [100].

### **2.2.11 Дифференциальная диагностика эймериидозов норок от болезней вирусной этиологии ИГХ методом**

Результаты этого этапа исследования опубликованы в статье «Дифференциальная диагностика эймериидозов норок от болезней вирусной этиологии иммуногистохимическим методом» [99].

Патологические процессы, вызванные паразитированием эймериид у норок, часто схожи с таковыми при различных инфекционных болезнях, таких как: вирус чумы плотоядных, алеутская болезнь норок и коронавирус. Для исключения возможности диагностических ошибок двадцать срезов тонкой кишки были окрашены гематоксилином и эозином и иммуногистохимически помечены антителами к антигену вируса чумы плотоядных, коронавируса и алеутской болезни норок.

В исследованных образцах было установлено, что собственная пластинка ворсинок содержит небольшие количества эозинофилов, меньшее количество нейтрофилов, плазмоцитов, лимфоцитов и редкие многоядерные клетки, указывающие на эпителиальный синцитий. В пределах среднего слоя слизистой и кишечных крипт разбросаны отдельные некротизированные эпителиальные клетки. Крипты кишки изредка замещены некротическим дегрисом и небольшим количеством дегенеративных нейтрофилов. Остатки эпителиальных клеток крипт содержали умеренно увеличенные количества митозов. Также наблюдалась гиперплазия бокаловидных клеток и выраженные лимфофолликулярные агрегаты.

Антигены вируса чумы плотоядных, коронавируса и алеутской болезни норок в исследованных срезах выявлены не были. Нуклеиновые кислоты вирусов во всех исследуемых образцах не обнаружены, во всех образцах результат ИГХ оказался отрицательным: (-АГ).

В результате паразитирования эндогенных стадий кокцидий в тонкой кишке установлен легкий эозинофильный и лимфоплазмочитарный энтерит, сопровождающийся редким некрозом крипт.

Эозинофильный компонент, а также обнаруженные паразитофорные вакуоли подтверждают наличие эндопаразитов (эймериид) в представленных образцах кишечника.

**Вывод.** При проведении иммуногистохимического окрашивания на вирус чумы плотоядных, алеутскую болезнь норок и коронавирус, были обнаружены изменения в образцах кишечника, они носили воспалительный характер, эти поражения были легкими или умеренными. Вирус чумы плотоядных, а также другие инфекционные болезни рассматривались как возможный патоген на основании присутствия редких многоядерных клеток, напоминающих синцитий, однако нуклеиновые кислоты вирусов во всех исследуемых образцах не обнаружены, во всех образцах результат ИГХ оказался отрицательным (-АГ). Эозинофильный компонент воспаления, а также обнаруженные паразитофорные вакуоли означают наличие эндопаразитов (эймериид) в представленных образцах кишечника [99].

### **2.2.12 Изучение бактериального сообщества кишечника у клинически здоровых норок и на фоне эймериидозов**

В данном разделе приведены данные о некоторых особенностях интестинальной микрофлоры животных и рассмотрены вопросы, связанные с влиянием нормофлоры на фундаментальные функции организма – формирование иммунной системы, защиту от возбудителей заразных болезней, развитие дисбактериоза и воспалительных процессов.

В естественных условиях обитания в составе микробиоценоза кишечника, кроме прокариотических сообществ, обнаруживаются разнообразные представители эукариот (простейшие, гельминты и низшие грибы), часто представленные полигастальными и убиквитарными видами. При совместном существовании филогенетически разнородные виды формируют сложную паразитарную систему в рамках которой меняется ландшафт кишечника, физический и иммунный статус зараженного организма, создаются

специфические условия для развития патогенного процесса. Подобное взаимодействие может критически изменить течение инфекционной болезни от субклинического проявления до летального исхода и определить общий соматический статус макроорганизма. Например, присутствие паразитов сказывается на взаимодействии хозяина с бактериальной аутофлорой, либо управляя, либо защищая от дисбиоза и воспалительных процессов. И наоборот, микробиота может изменить успех колонизации, размножение и вирулентность паразита, смещая его по спектру от паразитизма к комменсализму. Механизмы и последствия этих взаимоотношений только начинают изучаться в возникающей трансдисциплинарной области на границе микробиологии и паразитологии.

Учитывая большой спектр проблем в исследовании комменсализма микробной и паразитарной составляющей макроорганизма, в работе сделан акцент на изучении состава бактериального сообщества в норме и патологии при кокцидиидозах во взаимоотношениях между прокариотической микробиотой и эукариотическими паразитами в кишечнике позвоночных, на примере пушных зверей (норок).

Используя полученные знания о паразитах, их возможное взаимодействие с микробиотой, а также последствия таких взаимодействий для здоровья хозяина, все это должно помочь в понимании происходящих в кишечнике живых существ процессов, а полученные данные можно использовать для создания новых подходов в борьбе с болезнями. До начала изучения влияния микрофлоры на паразитов и наоборот, необходимо было оценить состав нормофлоры желудочно-кишечного тракта норок молекулярно-генетическим методом. Однако на момент начала наших исследований и отбора образцов кишечника норок в октябре-ноябре 2015 года, прямых упоминаний об этом в литературе найти не удалось. Исследования по изучению нормофлоры желудочно-кишечного тракта норок немногочисленны и связаны, в основном, с использованием классических бактериологических методов с использованием элективных и дифференциально-диагностических питательных сред, а также поиском препаратов коррекции

дисбиотических состояний у животных. Зато информации про изучение нормофлоры ЖКТ собак молекулярно-генетическим методом достаточно много [200, 201, 365, 369]. Поэтому перед тем как приступить к изучению нормофлоры норок, выполнены исследования по изучению ее у собак, это было сделано, для того, чтобы, во-первых, отработать методику; во-вторых, полученные данные мы хотели сравнить с результатами исследования нормофлоры ЖКТ норок, так как оба вида плотоядные и на наш взгляд их микрофлора должна быть схожа.

### **2.2.12.1 Оценка нормофлоры желудочно-кишечного тракта собак**

Результаты текущего этапа исследования опубликованы в статье «Microbial community studying of the dogs' gastrointestinal tract by the T-RFLP molecular genetic method and assessing the natural resistance of animals» [318].

Целью нашего исследования состояла в изучении структуры бактериального сообщества содержимого желудочно-кишечного тракта собак с применением молекулярно-генетического метода T-RFLP и выявлении корреляционных связей между выраженностью дисбиотических нарушений и состоянием резистентности организма. Для верификации полученных данных рассчитана модель, позволяющая объективно доказать достоверность полученных данных. Для достижения цели определены задачи: провести анализ бактериального сообщества фекалий 12 собак, а также изучить резистентность организма и иммунологические показатели крови.

Исследования проводили в молекулярно-генетической лаборатории ООО «Биотроф», куда в период с февраля по май 2016 года, поступило 12 проб фекалий от служебных собак, содержащихся в условиях питомника, г. Санкт-Петербурга. Все образцы отобраны у клинически здоровых животных одной породы, содержащихся в одинаковых условиях и с одинаковым рационом.

Объектом исследования явилось бактериальное сообщество исследуемых проб фекальных масс, а также кровь собак.

В качестве предмета изучения рассматривали молекулярно-генетического метода в изучении микробиоты желудочно-кишечного тракта плотоядных, в

частности собак, и выявление корреляционных связей между выраженностью дисбиотических нарушений и состоянием резистентности организма.

ПЦР-амплификацию генов 16S рНК бактерий проводили с использованием праймеров: 63F (CAGGCСТААСАСАТGСАAGTC) – с меткой на 5'-конце (флуорофор D4 – Well Red); 1492R (TACGGHTACСТTGTТАСGACTT).

Амплифицированный фрагмент выделяли из агарозного геля с помощью 3М раствора гуанидина тиоционата. Затем рестрикцию ампликонов с добавлением маркера молекулярного веса – 600 п.н. (Beckman Coulter) и разделяли в условиях капиллярного электрофореза с флуоресцентной детекцией с использованием автоматического секвенатора SEQ8000 (Beckman Coulter).

Вычисление размеров пиков и их площади проводили с использованием программного блока Fragment Analysis (Beckman Coulter). Для идентификации пиков T-RFLP-граммы для трёх эндонуклеаз (*Hae*III, *Hha*I и *Msp*I) обрабатывали с помощью программы Fragment Sorter (<http://www.oardc.ohio-state.edu/trflpfragsort/index.php>).

В результате проведенных исследований получены T-RFLP-граммы от каждой собаки, отражающие структуру бактериального сообщества фекалий. С помощью программы Frag Sort установлена таксономическая принадлежность пиков микроорганизмов в составе фекалий собак (Рисунок 2.2.12.1.1).

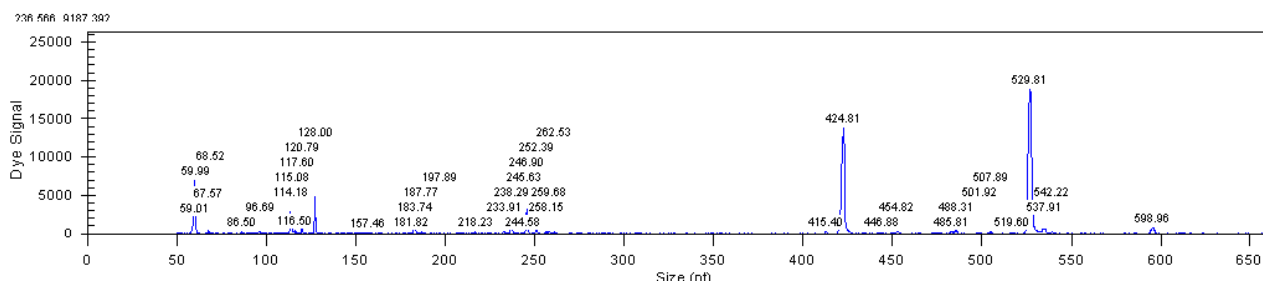


Рисунок 2.2.12.1.1 – Образец T-RFLP-граммы бактериального сообщества в фекалиях собаки №1

Среди огромного количества микроорганизмов, населяющих желудочно-кишечный тракт, лактобациллы и бифидобактерии играют важную роль в нормализации индигенной микрофлоры у животных и человека при энтероколитах и дисбиозах различной этиологии.

Установлено, что содержание в составе фекалий собак представителей семейства *Lactobacillaceae*, которые обычно обладают высокой антагонистической активностью против патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, было низким и варьировалось от 0 до 10,52%. Наибольшее содержание лактобактерий выявлено в фекалиях собак образцов № 1, 2, 3 и 6. При этом, доля бифидобактерий семейства *Bifidobacteriaceae* также оказалась низкой и варьировалось от 0 до 3,38% в фекалиях всех собак. Исключение составил образец № 4, содержание бифидобактерий в котором составило 3,42%, (Таблица 2.2.12.1.1).

Показано, что в фекалиях собак зафиксировано значительное количество бацилл семейства *Bacillaceae*. Стоит отметить, что они как правило, обладают высокой антагонистической активностью.

Во всех образцах фекалий обнаружены целлюлозолитические бактерии, обладающие способностью расщеплять углеводы кормов. Наибольшее содержание бактерий семейства *Ruminococcaceae* составляло от 0,4 до 3,87%, бактерий семейства *Lachnospiraceae* – от 0 до 1,24%, бактерий семейства *Eubacteriaceae* – от 0 до 1,21%. Наибольшее количество целлюлозолитических бактерий выявлено в пробах №2, 4, 6, 7, 10, наименьшее – № 1, 3, 8, 11, 12.

Результаты исследований показали, что наибольшее содержание представителей семейства *Clostridiaceae* зарегистрировано в образцах №1, 6, 7, 8, 10, 11 и 12.

Наибольшая доля бактериоидов фило *Bacteroidetes* (родов *Bacteroides*, *Flavobacterium*, *Flexibacter*, *Cellulophaga*, *Prevotella*) установлена в пробах фекалий собак №3, 6, 9, 10, 11 и 12.

В фекалиях всех собак выявлен ряд условно-патогенных бактерий – актинобактерии фило *Actinobacteria*, энтеробактерии семейства *Enterobacteriaceae* и кампилобактерии (рода *Helicobacter*) (Рисунок 2.2.12.1.2).

В настоящее время установлено, что данные микроорганизмы – постоянные обитатели ЖКТ животных и могут достаточно длительно существовать в

организме, не вызывая заболеваний, а также могут быть вытеснены из организма полезными симбиотическими представителями «нормальной» микрофлоры, например, лактобактериями и бациллами. Однако, при неудовлетворительных условиях содержания животных, плохом качестве корма, при несбалансированном кормлении, резкой смене рациона происходит изменение баланса в составе микрофлоры ЖКТ: активное размножение патогенных и условно-патогенных бактерий и вытеснение ими представителей «нормальной» микрофлоры со всеми вытекающими из этого негативными последствиями.

Таким образом, согласно результатам исследования микробиома кишечника собак выявлено четыре доминирующих типа бактериальной микрофлоры: Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes и Proteobacteria. Доля Actinobacteria в сообществе достигала 16,28 %, Bacteroidetes – 21,18 %, Firmicutes – 27,8 %, Proteobacteria – 24,5 %. Процентное соотношение некультивируемых форм бактерий (*Uncultured bacteria*) находилось в пределах 28,7 % (2.2.12.1.2).

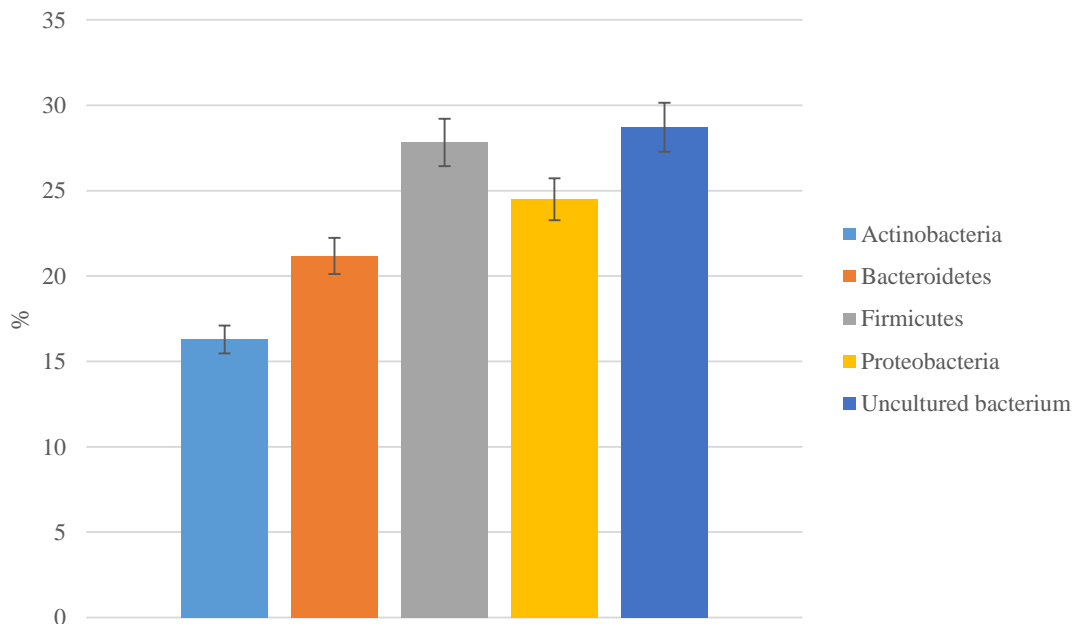


Рисунок 2.2.12.1.2 – Биоразнообразие микробиома кишечника собак

В составе идентифицированных 32 семейств обнаружены представители постоянно обитающих видов, сопутствующей и транзитной микрофлоры. Доминантная аутохтонная микрофлора состояла из анаэробных и факультативно-анаэробных бактерий (*Lactobacillaceae*, *Clostridiaceae*, *Bacteroidaceae* и



Eubacteriaceae), которые продуцируют жизненно важные для организма животного метаболиты, включая молочную кислоту и короткоцепочечные жирные кислоты. Из перечисленных таксонов доминировали Bacteroidaceae и Clostridiaceae, на их долю пришлось 6,48% и 5,04, соответственно. Такое соотношение является закономерным, поскольку Bacteroides кроме участия в метаболизме сахаров и белков способствуют снижению концентрации  $O_2$  и создают благоприятную среду для развития облигатных аэробов типа Clostridia. В этом случае необходимо отметить, что Clostridia относится к полифелитическому классу бактерий и его представители хоть и входят в состав нормальной микрофлоры, но при определенных условиях могут стать причиной инфекционных заболеваний, сопряженных с развитием острых или хронических энтеропатий. Субдоминантная сопутствующая микрофлора состояла из факультативных анаэробов семейств Enterococcaceae и Enterobacteriaceae. Основными представителями транзитной микрофлоры кишечника собак стали выявленные бактерии семейства Pseudomonadaceae, доля которых составила 4,25% от секвенированных таксонов.

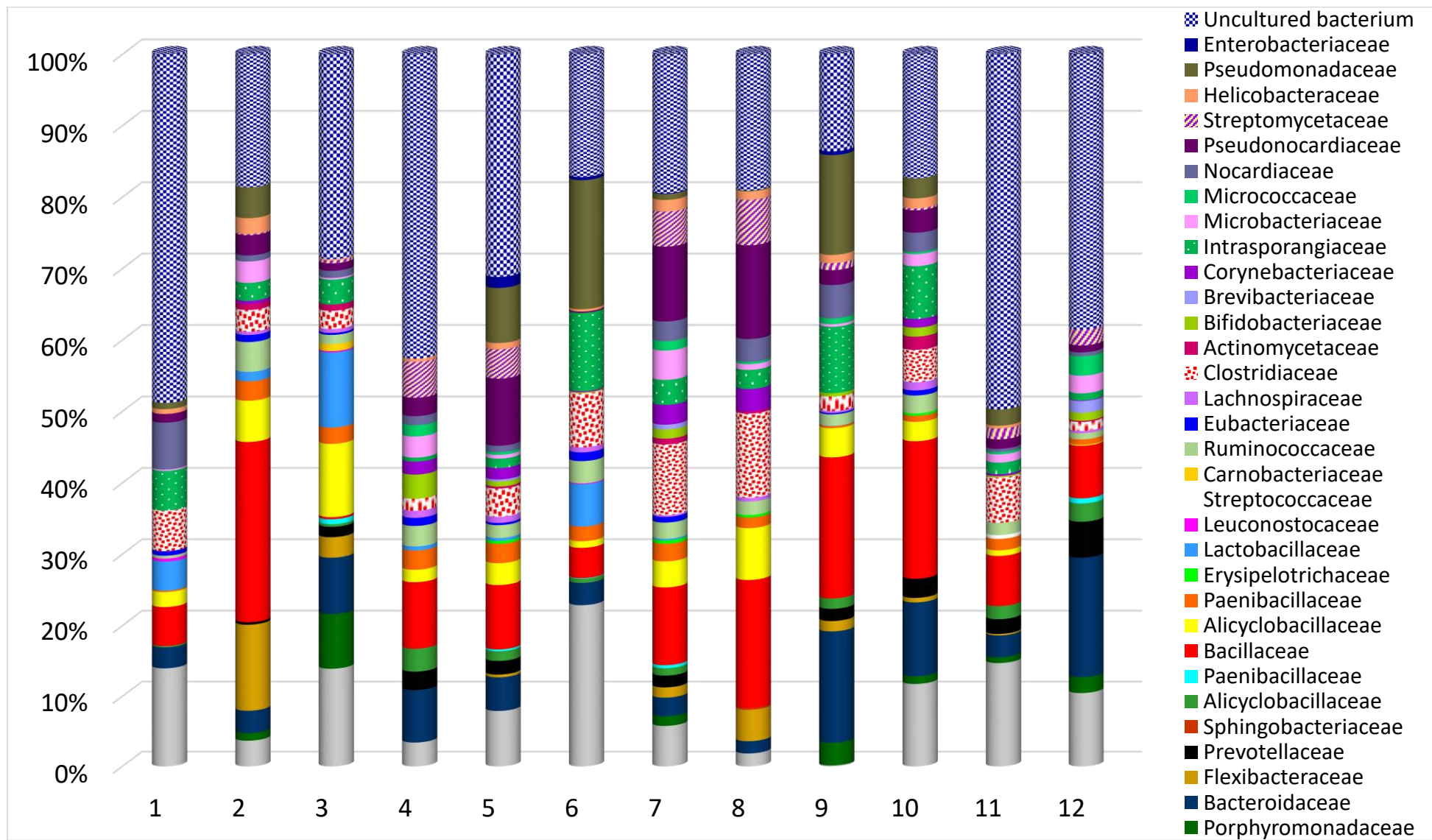


Рисунок 2.2.12.1.2 – Состав бактериального сообщества фекалий собак (n=12)

Таблица 2.2.12.1.1 – Состав бактериального сообщества содержимого фекалий собак (n=12)

Семейства микроорганизмов	Пробы фекалий											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Flavobacteriaceae	14	3,67	13,94	3,41	7,92	22,88	5,78	1,85	0,14	11,77	14,75	10,47
Porphyromonadaceae	0	1,09	7,7	0	0	0	1,38	0	3,23	1,09	0,83	2,27
Bacteroidaceae	2,97	3,19	7,89	7,49	4,8	3,12	2,66	1,75	15,84	10,41	3,06	16,79
Flexibacteraceae	0	12,2	2,87	0	0,39	0	1,46	4,48	1,45	0,63	0,21	0
Prevotellaceae	0	0,34	1,45	2,63	1,95	0	1,69	0	1,71	2,69	2,07	5,04
Sphingobacteriaceae	0	0	0	0	0	0	0	0,27	0	0	0	0
Alicyclobacillaceae	0,18	0	0,37	3,25	1,37	0,58	1,05	0	1,45	0	1,84	2,56
Paenibacillaceae	0	0	0,7	0	0,25	0,08	0,43	0	0	0	0	0,71
Bacillaceae	5,47	25,25	0,29	9,32	9,02	4,25	10,92	18,06	19,76	19,25	7,02	7,37
Alicyclobacillaceae	2,1	5,77	10,26	1,74	3,06	0,92	3,64	7,26	4,09	2,72	0,78	0,13
Paenibacillaceae	0,19	2,73	2,29	2,7	2,71	2,07	2,47	1,49	0,29	0,84	1,61	0,76
Erysipelotrichaceae	0	0	0	0	0,41	0	0,48	0,35	0	0,33	0	0
Lactobacillaceae	4,08	1,32	10,52	0,57	0,41	5,93	0,22	0	0,04	0	0	0
Leuconostocaceae	0,42	0	0,17	0	0	0,11	0	0	0	0	0	0
Streptococcaceae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,52	0
Carnobacteriaceae	0	0	0,99	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ruminococcaceae	0,4	4,17	1,29	2,87	1,8	3,12	2,27	1,89	1,6	2,52	1,72	0,87
Eubacteriaceae	0,63	0,99	0,28	1,13	0,31	1,22	0,8	0	0,2	0,71	0	0
Lachnospiraceae	0	0,44	0,54	0,99	0,86	0,7	0,21	0,51	0,27	1,14	0	0,31
Clostridiaceae	5,69	3,07	2,56	1,69	3,95	7,6	9,93	11,8	2,02	4,54	6,37	1,26
Actinomycetaceae	0	0,81	0,87	0	0,28	0	0,81	0,29	0	1,85	0	0,16
Bifidobacteriaceae	0	0	0	3,38	0,71	0,12	1,29	0	0,48	1,26	0,18	1,13
Brevibacteriaceae	0	0	0	0	0,29	0	0,67	0	0	0	0	1,64
Corynebacteriaceae	0	0,45	0	1,81	1,59	0,14	2,77	3,15	0	1,21	0,26	0,08

Intrasporangiaceae	5,55	2,53	3,49	0,57	1,33	10,97	3,5	2,68	9,3	7,41	1,63	1
Microbacteriaceae	0,18	2,98	0,23	2,95	0,51	0	4,1	0,8	0,36	1,67	1,15	2,47
Micrococcaceae	0	0	0	1,59	0,38	0	1,31	0,3	0,81	0,27	0,33	2,71
Nocardiaceae	6,58	0,86	1	1,26	0,91	0	2,77	3,22	4,67	2,74	0,44	0,55
Pseudonocardiaceae	1,22	2,84	1,05	2,58	9,4	0,19	10,48	13,13	2,09	3,13	1,33	0,98
Streptomycetaceae	0	0,16	0,41	5,04	4,11	0	4,93	6,39	1	0,27	1,53	2,22
Helicobacteraceae	0,67	2,21	0,16	0,42	0,87	0,32	1,61	1,14	1,13	1,4	0,38	0
Pseudomonadaceae	0,88	4,33	0	0	7,72	18,08	0,83	0,13	13,98	2,81	2,28	0
Enterobacteriaceae	0	0	0	0	1,53	0,44	0,09	0	0,52	0	0	0
<b>Uncultured bacterium</b>	48,79	18,6	28,68	42,61	31,16	17,16	19,45	19,06	13,57	17,34	49,71	38,52

Количество энтеробактерий семейства Enterobacteriaceae, среди которых часто встречаются микроорганизмы (*Salmonella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Escherichia coli*, *Serratia sp.*, *Citrobacter sp.*, *Klebsiella sp.*, *Kluyvera sp.*, *Pantoea sp.*) в фекалиях всех собак было низким.

Наибольшее содержание кампилобактерий было выявлено в фекалиях собак № 2, 7, 8, 9, 10.

Помимо этого, в фекалиях всех исследуемых животных выявлено значительное количество некультивируемых бактерий (микроорганизмы, которые нельзя выявить классическими микробиологическими методами), а также псевдомонады, наибольшее содержание которых было в пробах №6 и №9.

Наибольшее содержание актинобактерий филы Actinobacteria, среди которых часто встречаются возбудители актиномикозов, зарегистрировано в фекалиях собак № 4, 5, 7, 8, 9 и 10.

Вторым этапом исследования стало изучение естественной резистентности подопытных животных.

Для этого проведены, гематологические исследования полученные результаты представлены в таблицах 2.2.12.1.2-2.2.12.1.4.

Таблица 2.2.12.1.2 – Гематологические показатели крови собак (n=12)

(\*P ≤ 0,05)

Гемоглобин, г/л	Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$
122 ± 4,6*	7,56 ± 0,58	7,83 ± 0,65	368,5 ± 21,8

Результаты проведенных исследований показали, что количество эритроцитов, лейкоцитов, а также уровень гемоглобина у всех животных в течение эксперимента находились в пределах колебаний референтных значений.

Таблица 2.2.12.1.3 – Биохимические показатели сыворотки крови собак  
(n=12) (\*P≤0,05)

Общий белок, г/л	Альбумины, %	α-глобулины, %	β- глобулины, %	γ-глобулины, %
66,4±1,79*	38,9±1,08*	2,2±0,6	8,7±0,35*	15,3±1,58

Биохимические показатели крови, также, у всех подопытных животных находились в пределах референтных значений, что указывает на то, что все исследуемые собаки были клинически здоровыми, а полученные результаты являются достоверными.

Показатели бактерицидной и лизоцимной активности сыворотки крови собак во время эксперимента, составляли – 62,4±8,97% и 13,94±3,18%, соответственно.

Показатели клеточного звена естественной резистенности определяли путем подсчета количества фагоцитированных клеток нейтрофилами и последующим подсчетом фагоцитарного индекса, фагоцитарной активности и фагоцитарной интенсивности. По данным выполненных экспериментальных исследований на крови собак были рассчитаны приведенные ниже показатели фагоцитарной активности нейтрофилов.

Например, животное №1 в ходе эксперимента имело количество фагоцитированных клеток  $S_{\Sigma}=160$ .

*Фагоцитарный индекс* — это отношение суммы фагоцитированных клеток стафилококка ( $S_{\Sigma}$ ) к общему количеству нейтрофилов ( $N_{\Sigma}$ ):

$$\text{ФИндекс} = \frac{S_{\Sigma}}{N_{\Sigma}} = \frac{160}{53} = 3,01$$

*Фагоцитарная активность* — это отношение нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе к общему числу сосчитанных, выраженное в процентах:

$$\Phi_{Актив.} = \frac{N_{уч.}}{N_{\Sigma}} \cdot 100\% = \frac{43}{53} \cdot 100 = 81,1\%$$

Фагоцитарная интенсивность – исчисляется кол-вом фагоцитированного стафилококка (*St. aureus*), деленного на число участвовавших в фагоцитозе нейтрофилов:

$$\Phi_{Интенсив.} = \frac{СуммаSt}{\Phi_{Актив.}} = \frac{S_{\Sigma}}{N_{уч.}} = \frac{160}{43} = 3,72$$

После подсчета лейкоцитов и составления лейкограммы, определено количество нейтрофилов, участвовавших в фагоцитозе, а также количество фагоцитированных микробных клеток. На основании проведенных исследований получены данные, позволяющие увидеть некоторые закономерности, между количеством фагоцитированных клеток, фагоцитарным индексом и фагоцитарной интенсивностью (Рисунок 2.2.12.1.3).

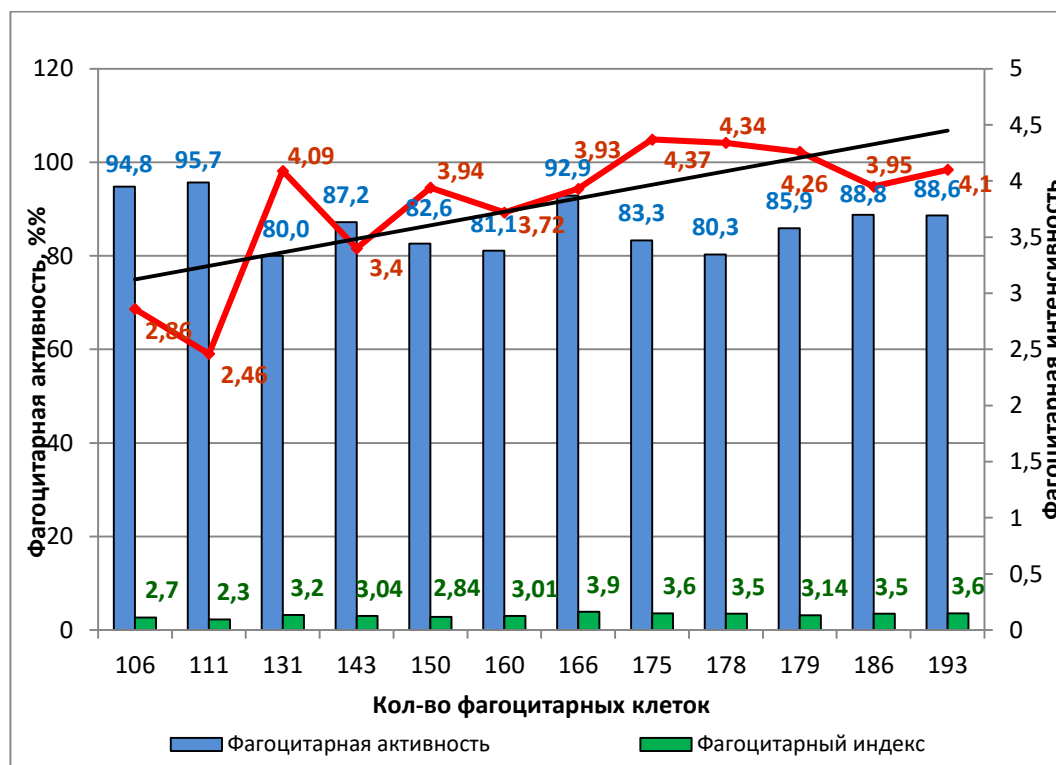


Рисунок 2.2.12.1.3 – Результаты статистической обработки данных исследования фагоцитарной активности нейтрофилов

Для выявления этих взаимосвязей необходима статистическая обработка результатов эксперимента и построение функции регрессии. Получение наилучшей оценки истинной функции регрессии, как правило, связано с использованием метода наименьших квадратов. В данном случае задача определения параметров такой функции приобретет конкретный смысл: это та функция, для которой средний квадрат отклонения индивидуальных значений результативного признака от соответствующих значений функции принимает наименьшее значение.

Большое значение для оценки качества построенной модели имеет множественный коэффициент детерминации  $R^2$ , который показывает, какой процент (из 100%) прогнозируемого показателя обусловлен влиянием рассматриваемых факторов. Если  $R^2 < 0,6$ , тогда следует уточнить и увеличить число анализируемых факторов.

Обработка статистических данных по всей группе животных приведенная в таблице 2.2.12.4 показала, что существует достаточно высокая степень зависимости фагоцитарной активности от количества фагоцитарных клеток. Коэффициент корреляции, показывающий зависимость между фагоцитарной интенсивностью и количеством фагоцитарных клеток составляет  $R=0,77$ . Коэффициент детерминации  $R^2=0,5859$ , т.е. фагоцитарной интенсивности почти на 60% зависит от количества фагоцитарных, клеток.

Таблица 2.2.12.1.4 – Показатели фагоцитарной активности лейкоцитов в крови исследованных животных (n=12)

Фагоцитарная активность	Фагоцитарный индекс	Фагоцитарное число
86,7±7,85	3,19±0,8	3,76±0,95

Найденная зависимость показывает, что с ростом количества фагоцитарных клеток увеличивается фагоцитарная интенсивность. Общий коэффициент уравнения равный 2,0231 является постоянным для данной группы собак и, вероятно, отражает состояние естественной резистентности



животных по исследованным параметрам. Для объективной верификации полученных данных предложена логарифмическая зависимость, которая позволяет предположить, что с увеличением количества фагоцитарных клеток скорость приращения фагоцитарной активности замедляется и приближается к насыщению.

Рассмотрим возможность использования данной зависимости для оценки фагоцитарной активности, при наличии данных о количестве фагоцитарных клеток на примере собаки под номером 1:

$$y=0,77421gx+2,0231=0,7742x160+2,0231=3,9$$

Абсолютная погрешность определяется как разность между экспериментальными данными, полученными в ходе опытов и расчетом по предлагаемой модели:

$$\Delta = 3,72-3,9 = -0,18$$

Относительная погрешность вычислений по предлагаемой модели составляет:

$$\delta\% = \frac{\Delta}{\text{Финтен.}} \times 100 = \frac{-0,18}{3,72} \times 100 = 4,8\%$$

Приведенные данные свидетельствуют о том, что погрешность расчетов, выполненных по данной модели в среднем не превышает 6,0%. Поэтому данную модель можно использовать в проведении исследований оценки нормофлоры желудочно-кишечного тракта животных.

Таким образом, в результате проведения T-RFLP-анализа задача стояла установить состав бактериального сообщества желудочно-кишечного тракта собак. Отдельно следует отметить, что микробный профиль каждого животного уникален.

Несмотря на то, что все животные участвующие в опыте, клинически здоровы, что подтверждается гематологическими исследованиями, тем не менее показано, что состав бактериального сообщества имеет отклонения от нормы.

Наряду с высоким содержанием в фекалиях собак полезных лактобактерий семейства *Lactobacillaceae* и бацилл семейства *Bacillaceae*, практически не было зафиксировано бифидобактерий. Наибольшее суммарное содержание бацилл и лактобацилл было выявлено в фекалиях собак №2, 3, 8, 9, 10.

В фекалиях всех собак был выявлен ряд патогенных бактерий – клостридий семейства *Clostridiaceae*, бактероидов фило *Bacteroidetes* (родов *Bacteroides*, *Flavobacterium*, *Flexibacter*, *Cellulophaga*, *Prevotella*), актинобактерии фило *Actinobacteria*, энтеробактерии семейства *Enterobacteriaceae* и кампилобактерии (рода *Helicobacter*).

Целью параллельного исследования явилось выявление корреляционных связей между выраженностью дисбиотических нарушений и состоянием резистентности организма. Достоверной связи между биохимическими показателями  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -глобулинами, уровнем лизоцимной, бактерицидной активности и наличием дисбиоза не выявлено. Отмечалась достоверная связь между нарушениями в составе нормальной микрофлоры и активностью фагоцитоза, которая проявлялась в усилении фагоцитарной активности клеток при развитии дисбиоза. Количество IgG и IgM от нормы достоверно не отличалось, однако имелась тенденция к повышению IgM. Уровень IgA оказался достоверно сниженным, причем отмечалась корреляция с глубиной нарушений в составе кишечной микрофлоры. Уровень иммунных комплексов повышался в зависимости от выраженности дисбиоза.

У собак с пониженной естественной резистентностью на фоне бактерицидной и лизоцимной активности уменьшается уровень иммуноглобулинов, и повышается фагоцитарная активность.

На основании проведенных исследований можно утверждать, что дисбиоз является важным патофизиологическим компенсаторным механизмом, отражающим временные или постоянные нарушения в системе общей защиты организма. Его появление, по-видимому, вызвано

необходимостью усиления антигенной нагрузки, поддерживающей не только мобилизационную готовность эпителия кишечника, но и иммунокомпетентные клетки в состоянии постоянной напряженности. На основании изложенного, считаем возможным, сделать вывод, что исследования на дисбиоз могут косвенно указывать на нарушения в иммунном статусе плотоядных, в частности собак.

Полученные нами результаты, могут быть использованы при анализе напряженности иммунитета у животных в условиях питомника при одинаковых условиях содержания и могут быть полезны для практикующих ветеринарных врачей [318].

#### 2.2.12.2 Изучение микробиоты желудочно-кишечного тракта клинически здоровых норок 16S метагеномным анализом

К доминирующим типам микробиома кишечника клинически здоровых норок отнесены: Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, Fusobacteria и Proteobacteria. Доля представителей типа Acidobacteria оказалась незначительной – 0,1 %, доля Actinobacteria в сообществе в среднем составила 18,8%, Bacteroidetes – 1,1 %, Firmicutes – 36,7%, Fusobacteria – 0,4%, Proteobacteria – 4,2%. Процентное соотношение некультивируемых форм бактерий (*Uncultured bacteria*) составило 38,6%.

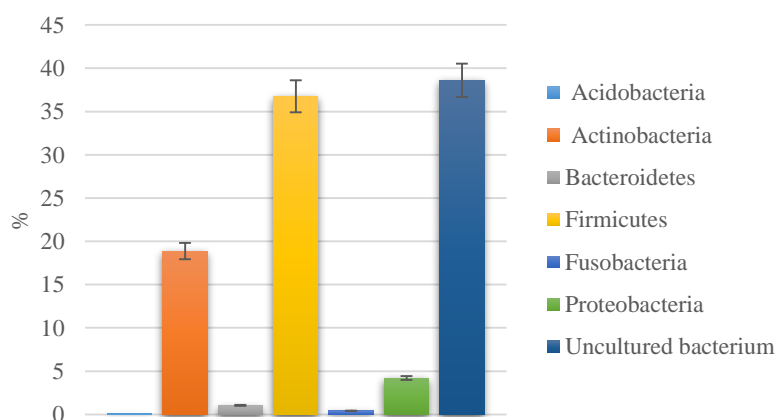


Рисунок 2.2.12.2.1 – Биоразнообразие микробиома кишечника клинически здоровых норок

Большинство бактерий в составе микробиома кишечника клинически здоровых норок (61,39%) идентифицированы до рода. Секвенированные бактерии вошли в состав 31 семейства и представляли доминантную аутохтонную, субдоминантную и транзиторную микрофлору. В отличие от микрофлоры кишечника клинически здоровых собак, в составе микробиома кишечника здоровых норок зафиксировано наличие представителей таких семейств, как Acidobacteriaceae и Fusobacteriaceae. Также расширился спектр Proteobacteria, в данный тип вошли 7 семейств с преобладанием Enterobacteriaceae (1,22%), Vibrionaceae (0,85%), Campylobacteraceae (0,78%) и Helicobacteraceae (0,77%).

### **2.2.12.3 Изучение микробиоты желудочно-кишечного тракта норок больных эймериидозами 16S метагеномным анализом**

Цель данного исследования, заключалась в том, чтобы изучить взаимоотношения между прокариотической микробиотой и эукариотическими паразитами в кишечнике позвоночных, на примере пушных зверей (норок). Используя полученные знания о паразитах, их возможное взаимодействие с микрофлорой кишечника, а также последствия таких взаимодействий для здоровья хозяина, становится возможной оценка процессов, происходящих в кишечнике животных. Полученные данные должны помочь в создании новых подходов в борьбе с инвазионными болезнями.

Выделение суммарной геномной ДНК, для электрофореза в 1% агарозном геле, а затем проведение секвенирования 16S ампликонов проведено из 8 образцов, доставленных в молекулярно-генетическую лабораторию ЦКП “Геномика” СО РАН (ИХБФМ СО РАН). Из них 2 образца (103 и 110) – содержимое кишечника больных эймериидозами животных, а остальные (104-109) – фрагменты кишечника больных эймериидозами норок, отобранные в одном из зверохозяйств Калининградской области. При отборе образцов соблюдались правила асептики и антисептики, а пробы помещались

в стерильные контейнеры, после чего они подвергались шоковой заморозке при температуре до  $-30$  до  $-35^{\circ}\text{C}$ .

Предварительно, проведено ИГХ исследование, для подтверждения отсутствия возбудителей инфекционных болезней, а также флотационная диагностика для обнаружения ооцист в фекалиях животных, образцы которых исследовали 16S метагеномным анализом. В результате ИГХ анализа установлено, что антигены вируса чумы плотоядных, коронавируса и алеутской болезни норок в исследованных образцах отсутствовали [99]. На основании морфометрии ооцист с использованием копроовоскопического метода обнаружено два кишечных вида эймериид, идентифицированных, как *E. vison* и *I. laidlawi*.

Тотальную ДНК выделяли с помощью набора DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen) в соответствии с инструкцией производителя. Для механического разрушения образца использовали TissueLyser II (Qiagen) 10 мин при 30 Герц. Качество ДНК оценивали с помощью электрофореза в 1%-ном агарозном геле, а количество его на Qubit (Life Technologies) и на Nanodrop (Thermo Fisher Scientific) (Рисунок 2.2.12.3.1).

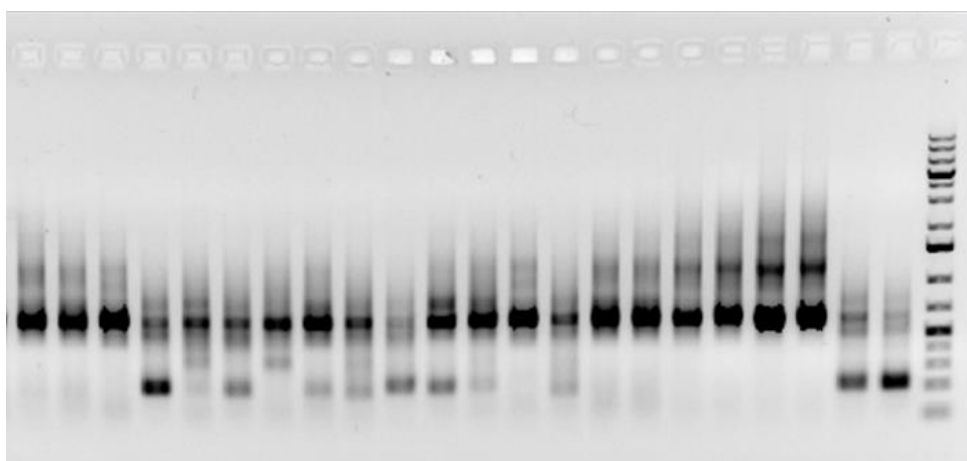


Рисунок 2.2.12.3.1 – Результаты электрофореза 16S ДНК-библиотек образцов норок

(Образцы Nor3-Nor10 в дублях, маркер - GeneRuler 1 kb Plus)

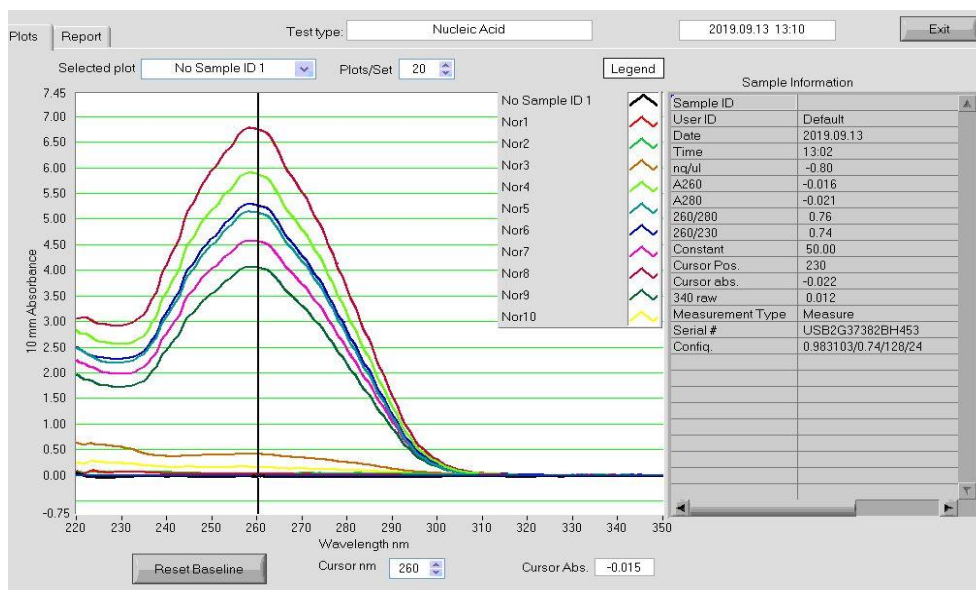
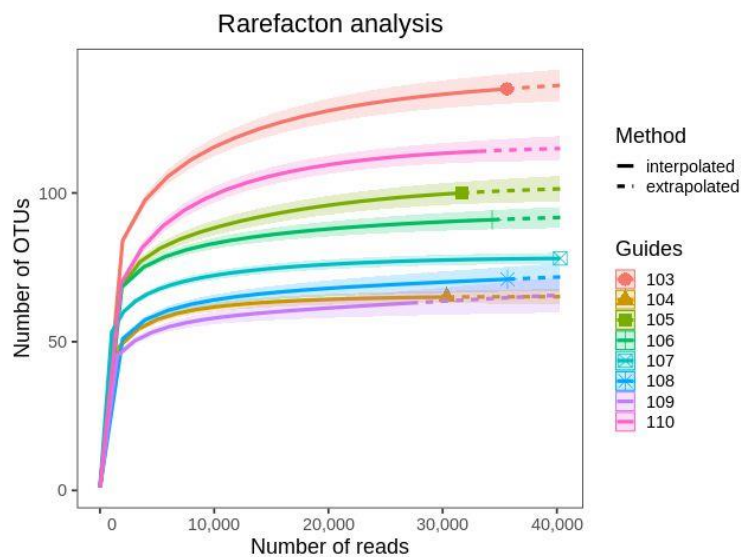


Рисунок 2.2.12.3.2 – Результаты спектрофотометрии (спектры поглощения ДНК, выделенной из образцов от норок)

Всего, в данном исследовании выявлено 343 различных бактериальных ОТЕ, относящихся к 13 типам, 26 классам, 51 порядку, 106 семействам и 172 родам. Больше всего в изученных образцах выявлено представителей типа Firmicutes: 145 ОТЕ, или 42% от всего состава ОТЕ. Proteobacteria с 88 ОТЕ составляли 26% от числа выявленных ОТЕ. К типу Bacteroidetes отнесено 35 ОТЕ, а к типу Actinobacteria – 45 ОТЕ, что составляет 10 и 13% от общего богатства ОТЕ. Типовую принадлежность установить не удалось у 17 ОТЕ, т.е. у незначительной (5%) части состава бактериального сообщества.

Совокупность нуклеотидных последовательностей каждого образца анализировали путем построения зависимости числа идентифицируемых операциональных таксономических единиц (ОТЕ) от общего числа последовательностей (Рисунок 2.2.12.2.3): с помощью выполненного анализа доказано, что обилие ОТЕ четко выходит на плато при увеличении числа последовательностей. Поэтому сравнивать разнообразие бактериальных сообществ, изученных образцов вполне корректно [306].



\* числа в легенде на графике обозначают номера образцов

Рисунок 2.2.12.3.3 – Кривые зависимости числа выявленных ОТЕ бактериальных сообществ от общего числа нуклеотидных последовательностей (ридов) в разных образцах

**Оценка биоразнообразия.** Число выявленных ОТЕ в разных образцах составило от 63 (образец 109) до 135 (образец 103), при этом актуальное видовое богатство оказалось близким к потенциальному, т.е. к индексу биоразнообразия Као-1, даже совпадая в одном образце (107) и максимально отличаясь в образцах 108 и 109.

Число доминантных ОТЕ варьировало по разным образцам фекалий от 8 до 21, т.е. максимальное пересечение состава бактериального ансамбля каждого конкретного образца со всей совокупностью выявленных ОТЕ составляло не более 6%. Максимальное число (21) доминантных ОТЕ выявлено в образцах 103 и 110, а минимальное (8) – в образце 108. Индексы  $\alpha$ -биоразнообразия также отличаются в этих образцах. Так, индекс доминирования Бергер-Паркера (0,68) и Симсона (0,48) максимален, а индексы выравненности Пиелу (0,37) и Шеннона (1,6) минимальны в образце 108.

Индексы  $\alpha$ -биоразнообразия, представлены в таблице 2.2.12.3.1.

Таблица 2.2.12.3.1 – Индексы  $\alpha$ -биоразнообразия в изучаемых образцах биологического материала, полученных от норок

№ Обр.	Индексы $\alpha$ -биоразнообразия						
	Бергера-Паркера	Доминирование (Симпсона)	Число ОТЕ	Као-1	Выравнинности (Пиелу)	Симпсона	Шеннона
103	0,22	0,092	135	142	0,64	0,908	3,15
104	0,31	0,159	65	65	0,60	0,841	2,52
105	0,36	0,178	100	103	0,55	0,822	2,55
106	0,22	0,078	91	94	0,73	0,922	3,28
107	0,29	0,110	78	79	0,68	0,890	2,95
108	0,68	0,476	71	89	0,37	0,524	1,57
109	0,25	0,113	63	81	0,66	0,887	2,73
110	0,28	0,110	113	114	0,63	0,890	2,96

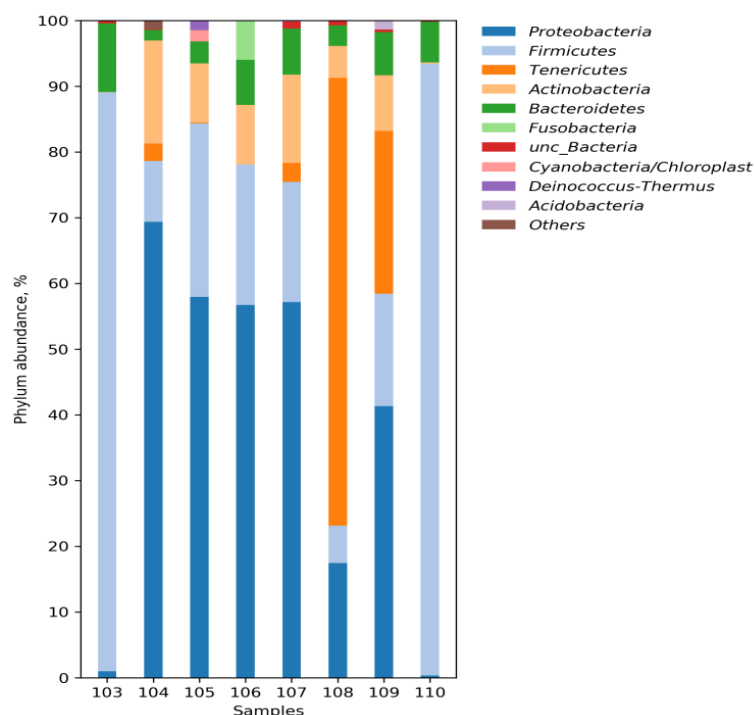


Рисунок 2.2.12.3.4 – Относительное обилие тип-специфичных бактериальных последовательностей генов 16S рРНК в образцах 103-110, полученных при интерпретации статистических данных



По относительному обилию таксон-специфичных последовательностей структура бактериальных сообществ образцов 103 и 110 кардинальным образом отличалась от остальных образцов уже на уровне типа (Рисунок 2.2.12.3.4).

При изучении биоразнообразия микробиома норок, зараженных эймериидозом, обнаружено присутствие семи типов бактерий: Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Coprothermobacterota, Firmicutes, Fusobacteria и Proteobacteria. Доля Acidobacteria не превышала 0,1%, процентное соотношение Actinobacteria составило 28,4%, Bacteroidetes – 9,9%, Coprothermobacterota – 3,01%, Firmicutes – 27,7%, Fusobacteria – 0,01%, Proteobacteria – 7,1%. Доля некультивируемых форм бактерий (*Uncultured bacteria*) в сообществе микробиома кишечника больных норок достигала 23,6% (Рисунок 2.2.12.3.5).

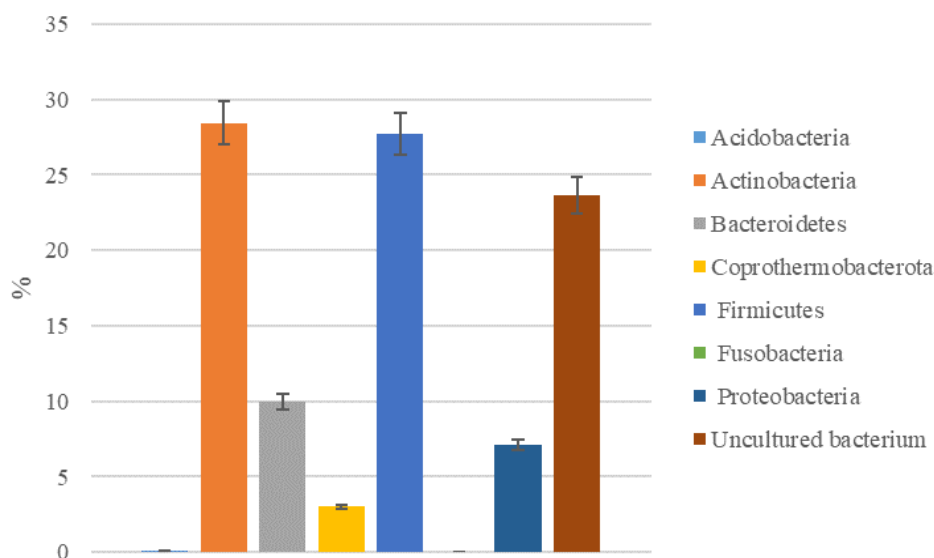


Рисунок 2.2.12.3.5 – Биоразнообразие микробиома кишечника норок, зараженных эймериидозом

Основной таксономический сдвиг связан с увеличением количества Bacteroidetes (9,21%) и Coprothermobacterota (3,01%), а также доли Micrococcaceae (21,2%), Enterobacteriaceae (4,1%) и Clostridiaceae (2,59%), соответственно в 4,4; 3,4 и 2,6 раз по сравнению с клинически здоровыми норками. Кроме того, в составе Proteobacteria обнаружены Neisseria в

количестве 0,89 %. Подобный таксономический сдвиг может сопровождаться разнообразными функциональными последствиями в организме зараженных эймериидозом животных, включая изменение в соотношении необходимого спектра микробных метаболитов и развитие бактериальных инфекций.

#### **Анализ главных компонент / Principal Component Analysis (PCA).**

С целью визуализации структуры отношений между изученными образцами и конкретными бактериальными таксонами проведена экстракция главных компонент из матрицы данных с образцами в качестве объектов и относительным обилием последовательностей каждого таксона в качестве переменных.

Наряду с отмеченным выше кардинальным отличием бактериальных ансамблей образцов 103 и 110 за счет резко повышенного обилия Firmicutes (Рисунок 2.2.12.2.6 А), образцы 108 и 109 отличаются по обилию типа Tenericutes, который был либо главным доминантом в образце 108 с 68%, либо вторым после Proteobacteria доминантом с 25% в образце 109. При переходе на более низкий таксономический уровень (Рисунок 2.2.12.2.6 Б-Е) доминирование Tenericutes в образцах 108 и 109 транслируется в доминирование одной ОТЕ (OUT\_5) (Рисунок 2.2.12.2.6 Е), а именно *Micoplasma* sp. Что касается Firmicutes в образцах 103 и 110, то на более низком уровне отличие этих образцов связано с порядками Clostridiales и Bacillales, из которых до рода определены только *Tissierella* из Clostridiales (13 ОТЕ) и *Atopostipes* из Lactobacillales (Рисунок 2.2.12.3.6 Д).

Четыре других образца, т.е. 104-107, отличаются высоким обилием *Proteobacteria*; что транслируется на более низкие таксономические уровни в обилии, а) Betaproteobacteria/ Burkholderiales/ Comamonadaceae/ Melaminivora и б) Gammaproteobacteria/ Pseudomonadales/ Pseudomonadaceae.

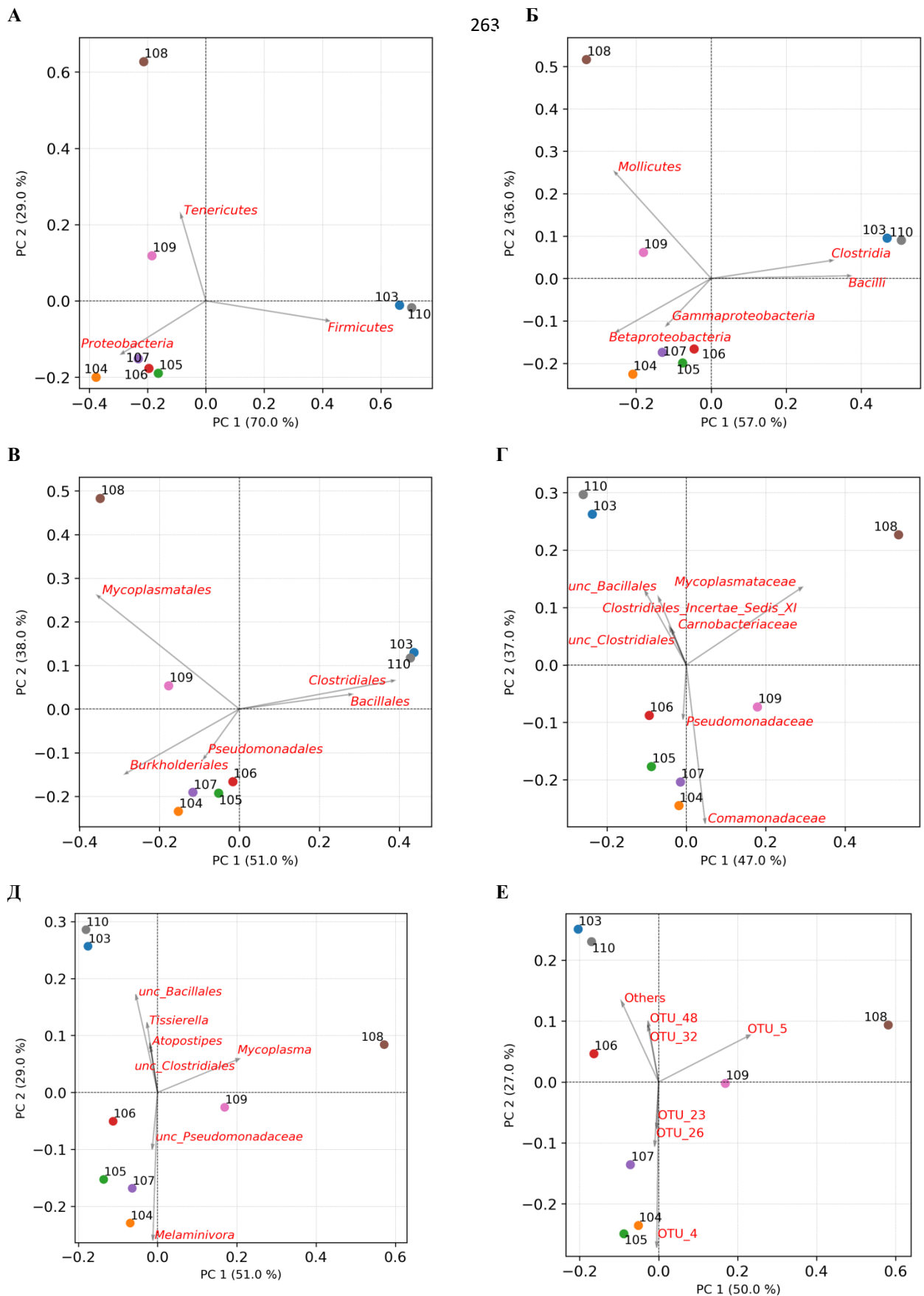


Рисунок 2.2.12.3.6 – Расположение объектов (образцов) и переменных (относительного обилия таксон-специфичных последовательностей) в плоскости первых двух главных компонент

Известно, что Firmicutes являются основным доминантом кишечной микробиоты многих млекопитающих, в том числе и взрослых норок [246]. На большом числе образцов фекалий показано, что при общем большом числе типов бактерий, выявляемых у норок, доминирующими являются не более трех типов [261], среди которых обязательно есть *Firmicutes* и *Proteobacteria*. В отличие от канадских норок, выращенных промышленным способом, в фекалиях которых основным доминантом был род *Ignatzschineria* (*Gammaproteobacteria*), только в двух (103 и 110) изученных образцах выявлено всего две ОТЕ этого рода с весьма низким относительным обилием (0,11-0,15%). Доминирование *Mycoplasma sp.* в образцах 108 и 109, вероятнее всего, свидетельствует о наличии заболевания, хотя эколого-физиологический спектр у микоплазм довольно широк.

Высокое относительное обилие *Melaminivora sp.* (12-36%) в бактериальных ансамблях четырех образцов от норок может быть следствием добавления меламина в корм этих животных.

**Выводы.** Несмотря на трудности, понимание механизмов, посредством которых кишечные паразиты и микробы влияют друг на друга, подобные исследования помогают выявить предикторы и зависимость различных эффектов, которые давали бы более глубокое понимание последствий таких взаимодействий для здоровья хозяина. Рассматривая экологию отдельных паразитов и микробов в кишечнике (что они делают и как они могут изменить экосистему) в кишечнике животного.

В результаты выполненного молекулярно-генетического анализа микробиома кишечника клинически здоровых собак и норок, а также норок, зараженных эймериидозом установлено, что каждое отдельно взятое животное имеет собственную уникальную и стабильную микробную экосистему, представленную доминантной аутохтонной, субдоминантной и транзитной микрофлорой.

При анализе микробиома на уровне семейства и рода обнаружены сходные таксоны (бифидобактерии, лактобактерии, бактериоиды, эубактерии, клостридии), на долю которых у отдельных взятых животных приходилось от 7 до 32% от общего числа генотипированных бактерий.

Среди исследованных групп животных обнаружена зависимость между некоторыми таксонами бактерий в составе микробиома кишечника: преобладание *Bacteroidetes* приводит к увеличению численности представителей полифелитического класса *Clostridia* до 5,04% у собак и 2,59% у норок, что может провоцировать развитие инфекционного процесса при дисбактериозе.

Межвидовое отличие микробиома клинически здоровых животных, касается снижения разнообразия среди представителей *Bacteroidetes* у норок (3 семейства) по сравнению с собаками (6 семейств), и *Actinobacteria* у норок – 6 семейств, а у собак – 9; и увеличения количества семейств типа *Proteobacteria* (с 3 до 7). Также в составе микробиома кишечника норок установлено присутствие *Acidobacteria* и *Fusobacteria*.

Заражение эймериидозом сопровождается таксономическим сдвигом в микробиоме кишечника: увеличением доли *Bacteroidetes*, *Micrococcaceae*, *Enterobacteriaceae* и появлением несвойственных здоровому организму представителей типа *Coprothermobacterota* и видов рода *Neisseria*.

Проведенное исследование включало изучение ограниченного количества образцов кишечника от больных эймериидозами норок, но отработанная методика несомненно представляет интерес, для дальнейшего уточнения и понимания патогенеза при эймериозе и изоспорозе норок клеточного содержания и влияния на него микрофлоры, а также для разработки новых способов лечения и профилактики данных болезней.

### 2.2.13 Прижизненная диагностика эймериидозов и нематодозов плотоядных

Прижизненная диагностика кишечных паразитозов осуществляется, в основном, копроскопией (от греческого слова *kopros* – кал, навоз, *skopeo* – смотрю) – совокупностью методов взятия, обработки и исследования проб фекалий животных и человека для обнаружения в них ооцист, цист простейших, яиц, личинок гельминтов или самих паразитов, их фрагментов (членики, отрезки) и установления диагноза [191]. Наиболее часто в лабораторной практике используются различные методы, основанные либо на седиментации (осаждения объектов), либо флотации (от англ. *flotation* – всплывание). Все они основаны на единой физической закономерности, обеспечивающей всплытие яиц гельминтов и ооцист простейших в насыщенных, растворах солей. Для этого рекомендуются растворы различных солей, но предпочтительнее дешевых и повсеместно доступных. Отдельные методы флотации называются по именам авторов, впервые предложивших ту или иную соль для приготовления флотационной жидкости: Фюллеборна, Дарлинга, Хренова, Щербовича и Котельникова.

При выполнении данной работы мы столкнулись с некоторыми недостатками уже известных и применяемых в нашей лаборатории методов. Так, некоторые из перечисленных выше флотационных жидкостей не позволяют выделять яйца всех видов гельминтов. Кроме того, пленка жидкости, помещенная на предметное стекло, должна немедленно исследоваться, так как при подсыхании соль кристаллизуется, что затрудняет обнаружение яиц гельминтов, и делает невозможным обнаружение ооцист кокцидий. Все это крайне неудобно при массовых копрологических исследованиях, это не позволяет за один день провести обследование достаточно большого количества проб, а изучение не свежих проб ставит под сомнение полученные результаты. Помимо этого, ни один из уже известных методов не позволяет одновременно выделить и окрасить цисты балантидий и

гиардий из фекальных масс, и выделить и окрасить мертвые, нежизнеспособные ооцисты кокцидий.

В связи с этим, перед нами стояла цель – разработать новые композиционные жидкости, отвечающие нашим требованиям и тем самым усовершенствовать прижизненную диагностику эймериидозов и нематодозов. и сравнить их с классическими методами копроскопии.

В ходе проведения серии экспериментов по созданию новых композиционных жидкостей (ПРИЛОЖЕНИЕ Б), сотрудники кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова создали «Жидкость для диагностики ооцист кокцидий, цист балантидий и гиардий, яиц гельминтов разных классов, клещей, насекомых, их отдельных стадий развития», патент РФ на изобретение № 2472154 [164] и «Композиционную жидкость для выделения ооцист и цист простейших» на которую получено положительное заключение № 2018137651/04 (062444) от 30.11.2018 на выдачу патента РФ.

Прототипом обоих патентов является жидкость Дарлинга, которая представляет собой смесь глицерина и насыщенного раствора соли в соотношении 1:1. Однако и этот метод имеет ряд недостатков, не всегда удается выделить ооцисты, особенно незрелые или при низкой интенсивности инвазии из-за недостаточной плотности раствора. У предлагаемых нами композиций рабочая плотность составляет – 1,28-1,31 г/мл. Первая жидкость содержит следующие компоненты: воду – 48% и натрия хлорид – 25%, лаурилсульфат натрия – 16,3%, насыщенный раствор поваренной соли, полиэтиленгликоль – 10% и бензоат натрия – 0,7%. Жидкость получилась гомогенной, опалесцирующей, полупрозрачной, сиропобразной консистенции (Рисунок 2.2.13.1). Однако данный метод не позволяет оценить жизнеспособность ооцист, выделить жизнеспособные от мертвых.

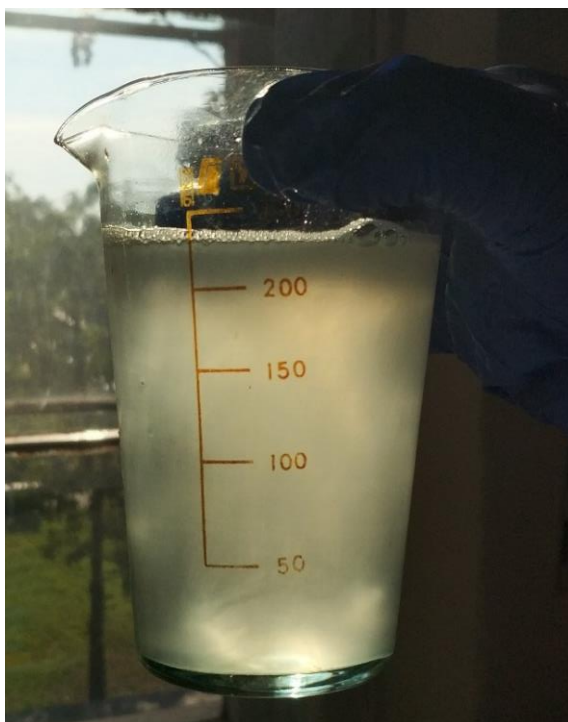


Рисунок 2.2.13.1 – Внешний вид жидкости для диагностики ооцист кокцидий, цист балантидий и гиардий, яиц гельминтов разных классов, клещей, насекомых, их отдельных стадий развития (оригинал)

Техническим результатом изобретения второй жидкости, на которую получено положительное заключение № 2018137651/04 (062444) от 30.11.2018 на выдачу патента РФ, является диагностика протозоозов. В состав композиционной жидкости входят: насыщенный раствор полисолей, глицерин, раствор Люголя, вода, а также вспомогательные вещества – бензоат натрия, линоленовая кислота, пропиленгликоль и отдушка.

Благодаря наличию раствора Люголя, мертвые и нежизнеспособные ооцисты и цисты балантидий и гиардий окрашиваются, а живые (жизнеспособные, т.е. способные к заражению), остаются неокрашенными.

Для проведения исследований мы отбирали в звероводческих хозяйствах, расположенных в Северо-Западном регионе РФ свежие фекальные массы спонтанно зараженных пушных зверей – норок (*Mustela lutreola*, Linnaeus, 1761; *Neovison vison*, Schreber, 1777) простейшими видов *I. laidlawi*, *E. vison*. Для получения достоверных результатов эксперимент проводили



путем серии экспериментов на достаточно большой выборке животных: в каждой группе подопытных животных по 12 животных каждого вида.

При проведении лабораторных исследований применяли классические методы Фюллеборна, Котельникова, стандартизированный метод Дарлинга (ГОСТ 2583-82) и два предложенных нами метода с использованием новых жидкостей (универсальная и композиционная).

После проведения статистической обработки результатов полученные данные вносились в таблицу 2.2.13.1. В эксперименте участвовали по 12 спонтанно инвазированных норок.

В результате универсальная диагностическая жидкость и композиционная жидкость разработанная нами показали высокую эффективность при проведении копроскопических методов исследования при диагностике эймериидозов у норок. Поэтому они могут быть рекомендованы для внедрения в лабораторную практику.

Таблица 2.2.13.1 – Сравнительная эффективность копроскопических методов исследования при диагностике эймериидозов у норок (n=12)

Методы диагностики	Пробы фекальных масс норок (1 г), спонтанно зараженных <i>I. laidlawi</i> , <i>E. vison</i> (n=12) /в 10 п.з.м. (10x10)																							
	1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11		12	
	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E	I	E
<b>Фюллеборна</b> (классический)	5	1	3	2	6	2	5	4	3	2	3	0	4	2	4	1	3	0	6	1	6	2	4	0
<b>Дарлинга</b> (стандартизированный)	9	8	7	7	6	3	8	6	10	9	7	5	8	6	11	8	9	4	12	3	11	5	7	3
<b>Котельникова</b> (классический)	10	8	11	7	9	6	10	7	12	8	11	5	8	7	10	6	8	3	8	5	13	6	8	4
<b>Универсальная жидкость</b> (запатентованный)	13	10	16	9	12	7	14	8	17	12	10	8	11	9	15	9	12	5	14	6	15	7	13	6
<b>Композиционная жидкость</b> (запатентованный)	10	8	14	5	10	4	11	5	16	9	8	6	10	8	11	5	8	4	9	3	12	4	9	5

На сегодняшний день имеется большое количество промышленно-выпускаемых лабораторных штативов и посуды, однако ни один из предложенных ранее вариантов не позволяет разместить информацию о содержимом пробирок. Это особо актуально, когда нужно пометить определенные пробы для дальнейшего их изучения, например, когда при световой микроскопии уже были обнаружены интересующие нас объекты – ооцисты кокцидий, яйца гельминтов и т.д., и затем эти пробы необходимо отделить для дальнейшего изучения, например, молекулярно-генетическим методом или же для уточнения полученных результатов и сравнения одного образца с другим. Для облегчения работы нами предложен и запатентован штатив для пробирок. Технический результат заключается в том, что предлагаемое устройство 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. Полезность предлагаемого изобретения заключается в повышении удобства проведения исследований с использованием пробирок, так как часто в работе принимает участие коллектив специалистов, а записи, касающиеся содержимого пробирок, как правило, сделаны в отдельном журнале, хранящемся у одного из них.

Штатив для пробирок настольный содержит стойку 1, выполненную из единой прозрачной пластиковой пластины, которая изогнута с образованием горизонтальных опорных оснований 2 и вертикального каркаса 3, выполненного с возможностью вставления в него листа бумаги (Рисунок 2.2.13.2).

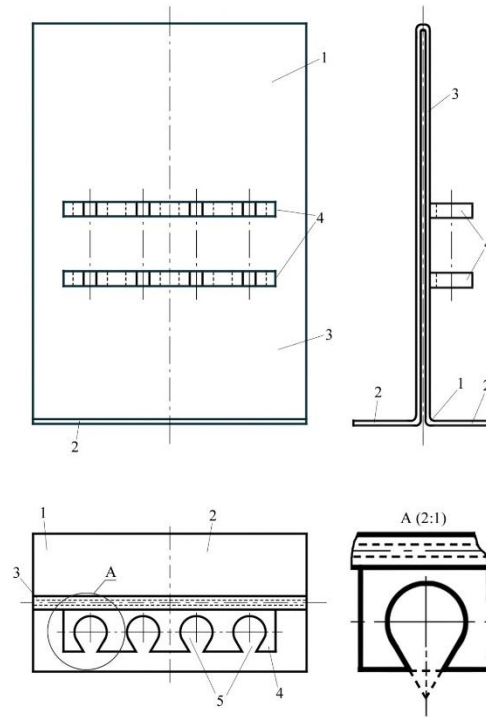


Рисунок 2.2.13.2 – Вид предлагаемого изобретения спереди; 2 – вид справа на предлагаемое изобретение; 3 – вид сверху на предлагаемое изобретение; 4 – выносной элемент А (2:1) фигуры 3, иллюстрирующий фрагмент горизонтального держателя с каплевидным пазом



Рисунок 2.2.13.3 – Общий вид штатива (оригинал)

Штатив для пробирок настольный используют следующим образом:

1) для хранения пустых пробирок их устанавливают в пазах 5 держателей 4 штатива, устойчиво размещённого на горизонтальной плоскости (например, на столе) за счёт горизонтальных опорных оснований 2 стойки 1, при этом предпочтительнее размещать пробирки отверстием вниз, что поможет избежать попадания и скопления внутри них пыли (Рисунок 2.2.13.3);

2) при проведении эксперимента пробирки с содержимым устанавливают в пазах 5 держателей 4 штатива, а в пространство между двумя сторонами вертикального каркаса 3 стойки 1 вставляют лист бумаги с размещённой на нём информацией, касающейся содержимого пробирок.

Помимо выделения ооцист эймериид из фекальных масс пушных зверей необходима также их дифференциальная диагностика друг от друга, что иногда достаточно сложно по ряду причин. Так, выделяемые во внешнюю среду с фекалиями животных ооцисты кокцидий разных видов могут быть сходны по форме, окраске, и даже по величине, что затрудняет лабораторную диагностику.

Для культивирования ооцист эймериид мы использовали методику Арнастаускене (1985) с использованием 2% раствора бихромата калия. После концентрации и отмывания ооцисты помещались в данном растворе в термостат при температуре 25-28°C, после чего ежедневно просматривались под микроскопом в чашках Петри. На сегодняшний день известен целый ряд разновидностей хорошо известных чашек Петри стандартных размеров.

Нами предложена усовершенствованная полезная модель, на которую получен патент РФ «Чашка Петри» RUS № 180046, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ от 31.05.2018 г.

Предложенная полезная модель Чашки Петри содержит емкость 1, крышку 2, пазы 3 на наружной боковой поверхности емкости 1 выполнены под углом 45° в виде Г-образной формы по направлению к ее основанию и расположены друг против друга. Выступы 4 на внутренней боковой поверхности крышки 2 эквидистантно расположены относительно пазов и выполнены цилиндрической формы, диаметр которых эквивалентен ширине

пазов 3 на наружной боковой поверхности емкости 1. Предлагаемая чашка Петри может быть успешно применена при проведении микробиологических исследований в ветеринарных лабораториях, лабораторно-практических занятий и научных исследований на кафедрах эпизоотологии, паразитологии, ветеринарно-санитарной экспертизы и микробиологии.

Техническим результатом полезной модели, предлагаемой нами, является исключение указанных недостатков, а также сокращение времени на общепринятые манипуляции.

Вид предлагаемой чашки Петри представлен на рисунке 2.2.13.4

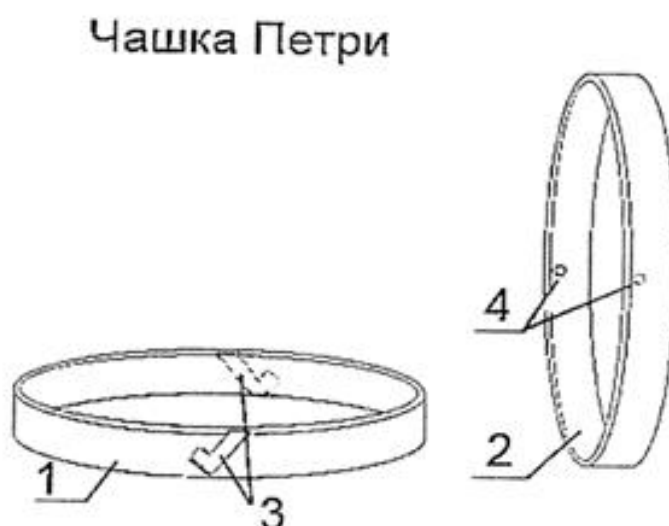


Рисунок 2.2.13.4 – Схема устройства Чашки Петри

Кроме культивирования ооцист эймериид, мы столкнулись с необходимостью выращивания различных личинок нематод, для этого нами было предложено «Устройство для сбора личинок и мелких нематод из фекалий животных и человека» (на которое получен патент на полезную модель РФ RUS № 191895 U1, от 26.08.2019, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ от 31.05.2018 г.), отличающееся тем, что содержит ёмкость в виде плоскодонного цилиндра высотой 14 мм и диаметром 100 мм, в центре которого расположена шестигранная сквозная втулка, высота которой соответствует высоте бортов ёмкости, причём

внутренняя поверхность втулки снабжена вертикальными бороздами, а её внешние рёбра соединены с бортами ёмкости радиальными перегородками, высота которых соответствует высоте бортов ёмкости (Рисунок 2.2.13.5).

Полезность предлагаемой полезной модели заключается в том, что она позволяет:

1) собирать личинок и мелких нематод из фекалий животных, даже если масса пробы составляет порядка 5 граммов (что означает возможность проведения исследования даже при отборе небольшой пробы, экономию затрат на транспортировку материала в случае большого количества проб или возможность использовать только часть полученной пробы для сбора личинок и мелких нематод, в то время, как оставшуюся часть можно использовать для выявления яиц гельминтов, ооцист кокцидий или иных паразитов);

2) сохранять полученных нематод продолжительное время, гарантируя при этом высокую чистоту материала (что облегчает дифференциальную диагностику нематод, основанную на их морфологии, так как они успевают испражниться, и визуализация их внутренних структур за счёт этого улучшается, однако при этом не наступает их отравления собственными метаболитами и существенного загрязнения воды, в которой они находятся; сбор таких личинок и мелких нематод для исследований молекулярно-генетическими методами не требует дополнительного их отмывания);

3) проводить такие манипуляции как окрашивание части собранных нематод при интактности оставшихся нематод в одном устройстве (что позволяет использовать оставшихся нематод для исследований другими методами).

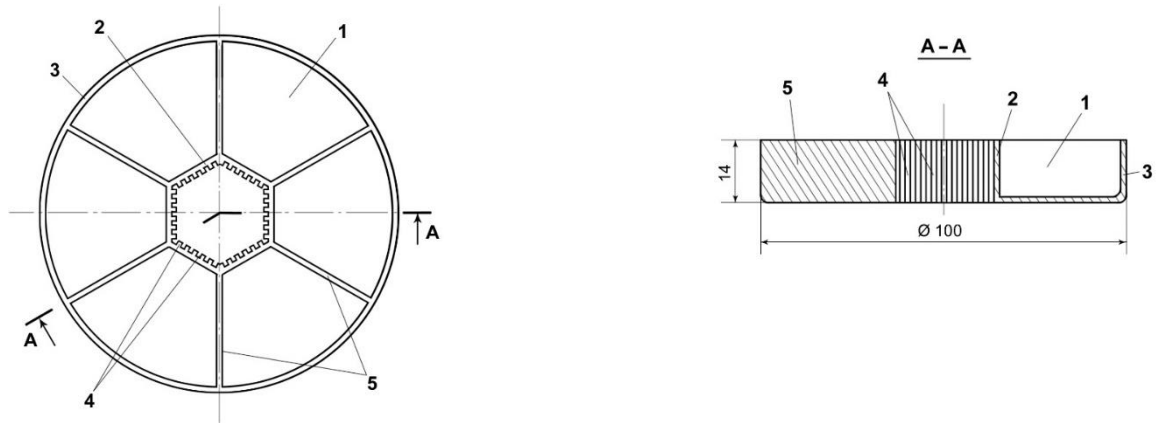
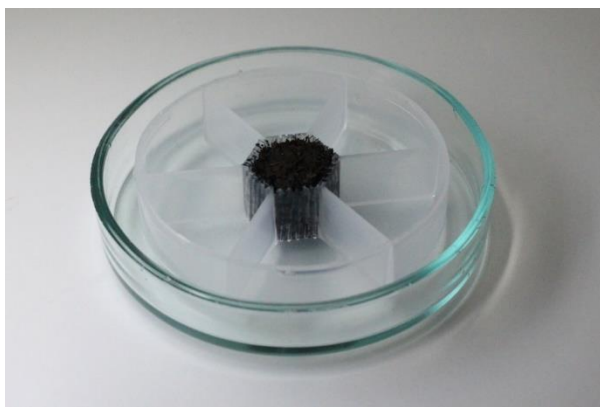
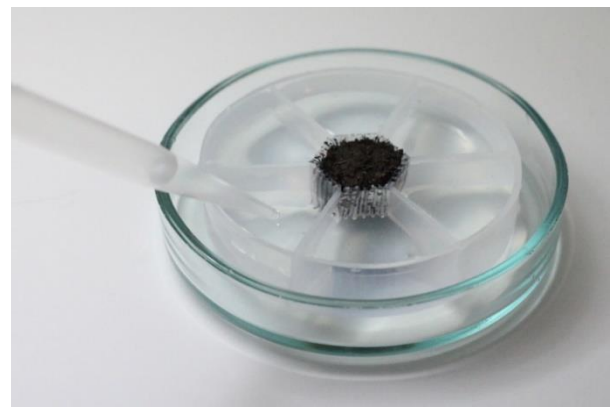


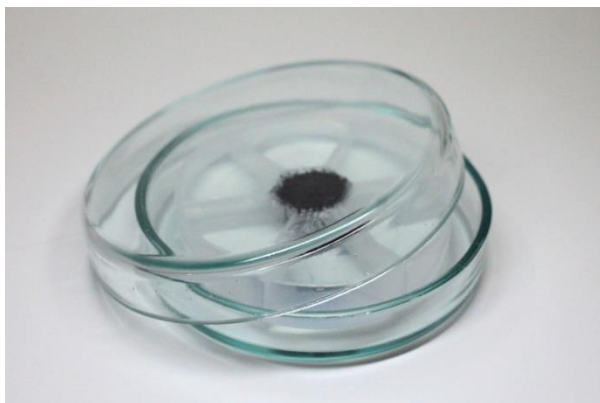
Рисунок 2.2.13.5 – Схема устройства для сбора личинок и мелких нематод из фекалий животных, и человека (Патент № 191895 РФ) [163]



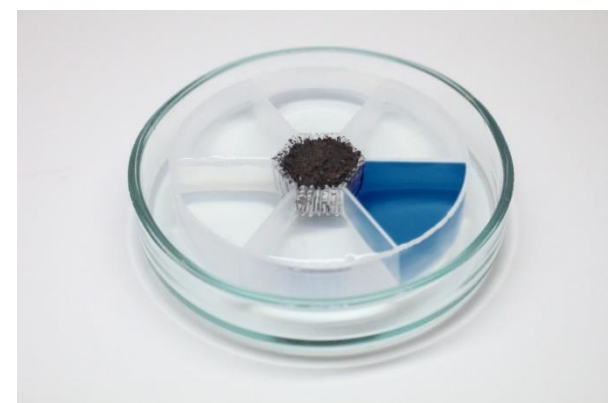
А



Б



В



Г

Рисунок 2.2.13.6 – Устройство для сбора личинок и мелких нематод из фекалий (оригинал)

А – устройство-ловушка, вложенное в чашку Петри и заполненное фекалиями в центре; Б – то же в процессе наполнения отсеков устройства водой; В- устройство в процессе экспозиции, прикрытое крышкой для уменьшения испарения; Г- в один из отсеков устройства добавлен краситель метиленовый синий для дифференциации разных видов личинок;





Рисунок 2.2.13.7 – Личинка *Strongyloides spp.*, выделенная новым методом из фекалий норки (оригинал)

### **2.2.13.1 Копрологическая диагностика паразитозов пушных зверей: источники ошибок первого и второго рода**

Результаты текущего этапа исследования опубликованы в статье «Копрологическая диагностика гельминтозов полудиких животных: источники ошибок первого и второго рода» [134].

Копрологическая диагностика паразитозов включает в себя применение различных методик, однако имеется целый ряд обстоятельств, затрудняющих проведение рутинных лабораторных исследований. Например, необходимо принимать во внимание, что яйца гельминтов или ооцисты кокцидий выделяются из организма животных непостоянно. Динамика их выделения зависит от вида возбудителя, половозрастных особенностей животных, от зонально-климатических условий их содержания, от резистентности организма хозяина.

Помимо обстоятельств, на которые не могут повлиять ветеринарные специалисты в лаборатории, не редки случаи, когда используются неправильные протоколы исследований или методики, что приводит к ошибкам и искажению получаемых данных.

По данным Логинова О.А., Белова Л.М. (2015) «следует обращать внимание на плоскость, в которой встречаются те или иные объекты. При большом увеличении (x40) во время работы микровинтом можно

переместиться из плоскости препарата в плоскость предметного стекла, так как глубина резкости видимого пространства очень мала. Таким образом, можно исключить пузырьки, а также дефекты стекла» [133].

Важно исследовать содержимое объекта. В яйцах гельминтов, как правило, просматриваются личинки или клеточные образования, в то время как капли или пузырьки имеют однородный характер.

Понятия ошибок первого и второго рода изначально были сформулированы для сферы математической статистики [49]. Однако ими оперируют и в других областях знания, когда при принятии бинарного решения на основании некоего критерия, есть вероятность получить ложный результат. Для диагностики паразитозов в лабораторной практике при проведении копроскопии в качестве основного критерия служит морфология возбудителя. Задача исследователя – определить, является ли обнаруженный в фекалиях объект паразитом, присущим данному дефинитивному хозяину или нет. В таком случае ошибка первого рода ведёт к ложноположительному результату, когда за паразита принимают объект иной природы. А ошибка второго рода – к ложноотрицательному, когда истинно паразитический организм не идентифицируется исследователем как таковой. Диагностика паразитозов пушных животных копрологическими методами имеет свои особенности, о которых мы расскажем подробнее, дабы предостеречь наших коллег от совершения подобных ошибок и для повышения точности проводимых исследований.

Логинова О.А., Белова Л.М. (2015) в одной из работ предложено провести разделение объектов, визуально имитирующих яйца гельминтов и ооцисты кокцидий, на две основные группы: абиотические (пузырьки, капли и кристаллы) и биотические. Эти же авторы указывают, что: «объекты второй группы (споры и пыльцевые зерна растений, споры грибов, яйца членистоногих) исследователями предложено подразделить на подгруппы в зависимости от их происхождения (царство: животные/растения/грибы). Данные объекты достаточно часто могут встречаться в исследуемых пробах в

связи с обсеменением ими кормов, фекалий, или же при отклонении от нормативов при проведении исследований, например, оставление проб рядом с открытым окном» [133].

Наряду с типичными ооцистами эймериид и яйцами гельминтов в фекалиях пушных зверей улавливали объекты, напоминающие таковые по ряду признаков (форма, размер, строение), но не полностью соответствовавшие им (Рисунок 2.2.13.1.1). Обнаружение в препаратах таких объектов, может ввести в заблуждение начинающего специалиста, для исключения их при дифференциальной диагностике целесообразно использовать комплексный подход, а также различные справочные материалы.

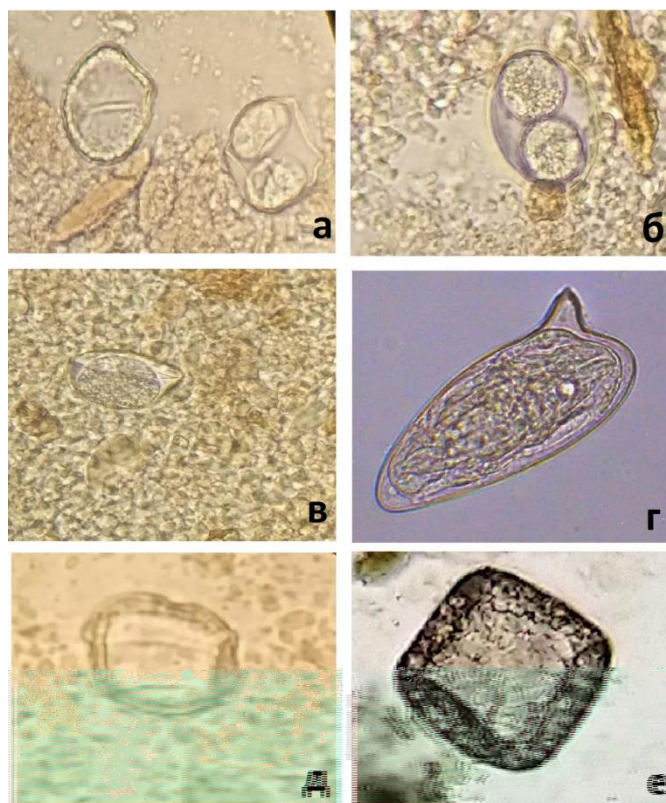


Рисунок 2.2.13.1.1 – Объекты встреченные в процессе выполнения работы, не являющиеся паразитами (слева – а, в, д); Объекты, относящиеся к паразитам (справа – б, г, е); а – объект напоминающий делящуюся ооцисту; б – ооциста *I. laidlawi* (в процессе споруляции); в – семечка растения; г – яйцо *Schistosoma mansoni*; д – объект напоминающий яйцо мониезии жвачных; е – яйцо *Moniesia benedeni* (оригинал)

Логиновой О.А., Беловой Л.М. (2015) сообщается, что: «основная масса сходных с яйцами гельминтов и ооцистами кокцидий объектов составляют именно растительные элементы. К ним относятся споры и пыльцевые зёрна. Помимо того, что представлено на иллюстрациях, нами были обнаружены пыльцевые зёрна покрытосеменных (*Convolvulus arvensis* – вьюнка полевого, *Acer platanoides* – клена остролистного, *Betula pendula* – березы повислой и др.) и голосеменных растений (*Pinus sylvestris* – сосны обыкновенной, *Larix sibirica* – лиственницы сибирской)» [133]. Помимо яиц и ооцист паразитов, растительные фрагменты могут напоминать гельминтов в фазе личинки (Рисунок 2.2.13.1.2).

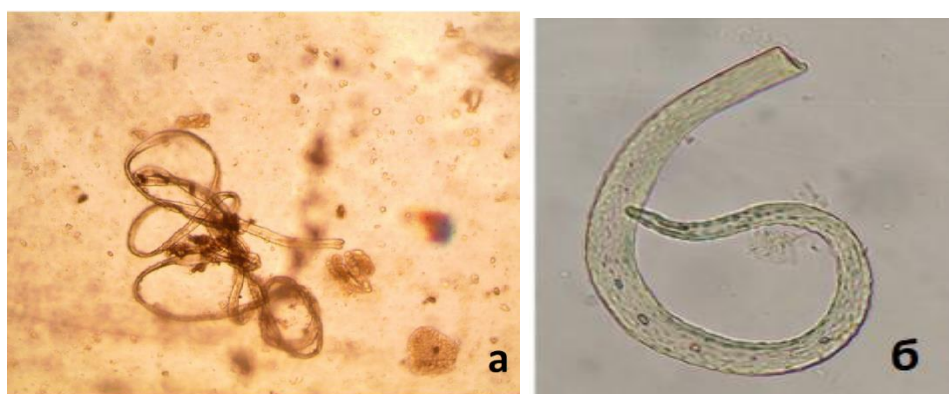


Рисунок 2.2.13.1.2 – Объекты, имитирующие личинку гельминта  
а – фрагмент растения; б – фрагмент волоса животного (оригинал)

Примечательно, что такие фрагменты растений или волоски, оказавшись во влажной среде, теряют упругость, но приобретают эластичность. Таким образом, они напоминают паразитических червей не только по размерам, цвету и форме, но и на ощупь. Для дифференциальной диагностики этих объектов достаточно провести их микроскопию. Однако они никогда не будут обладать свойством подвижности. Кроме того, более тщательное изучение их внутренних структур, особенно на терминальных участках, поможет в их корректной идентификации. Подобные объекты принято называть псевдопаразитами (*pseudoparasites*).

Также могут встречаться объекты, относящиеся к ложным паразитам, то есть организмы, не обитающие у пушных зверей, паразитирующие у других

животных, растений или же ведущих сапрофитный образ жизни во внешней среде (Рисунки 2.2.13.1.3 и 2.2.13.1.4).



Рисунок 2.2.13.1.3 – Личинка *Strongyloides spp.* (оригинал)



Рисунок 2.2.13.1.4 – Яйцо членистоногого (оригинал)

К ложным паразитам животных также относится и случай, описанный в результате проводимых нами ранее исследований в период с 2009 по 2012 г., когда в фекалиях молодняка норок были обнаружены яйца гельминтов, идентифицированные по их строению и размерам как *T. leonina* [109] (Рисунок 2.2.13.1.5).



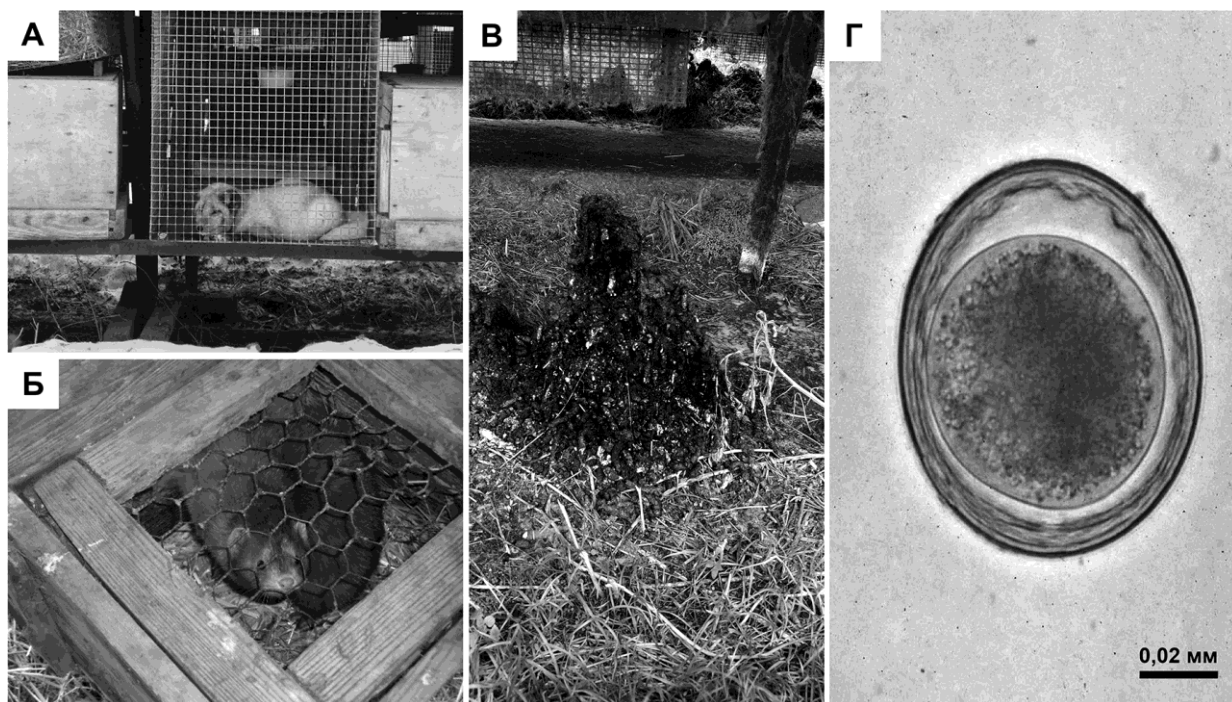


Рисунок 2.2.13.1.5 – Обследование пушных зверей на гельминтозы:  
 А – песец в клетке (шеде); Б – норка в клетке; В – фекалии пушных зверей на земле под шедом; Г – яйцо *T. leonina*, световая микроскопия методом светлого поля, увеличение  $\times 40$  по объективу (оригинал)

Данный случай с выявлением яиц *T. leonina* в материале от норок наглядно иллюстрирует особенности работы с копрологией у пушных животных (Рисунок 2.2.13.1.5). Получить от них материал ректально на практике не представляется возможным. Животные содержатся в специальных сооружениях (шедах), внутри которых установлены индивидуальные клетки, размещённые выше уровня земли и снабжённых сетчатым полом, чтобы экскременты, падая, оставляли шед максимально чистым (Рисунок 2.2.13.1.5 В). Поэтому для исследования собирают свежевыделенные фекалии с самой верхней части той массы, что скапливается под шедом. Поскольку по литературным данным считается, что *T. leonina* не паразитирует у норок, было необходимо либо пересмотреть этот постулат, либо выявить источник ошибки. В результате было установлено, что на месте тех клеток, где в момент отбора проб находился молодняк норок, ранее содержались песцы, заражённые токсаскариозом. После того, как зверохозяйство отказалось от продолжения выращивания крупных пушных зверей (песцов, лисиц,

енотовидных собак) клетки для выращивания этих животных разобрали, а на их место в те же шеды установили клетки для норок. Экскременты с земли убрали, но как оказалось не слишком тщательно. Таким образом, при отборе проб тонкий слой фекалий молодняка норок смешался с остатками нижележащего слоя фекалий песцов. Истинно паразитические объекты, обнаруживаемые у определённого животного, но не свойственные для него, принято называть ложными паразитами (*spurious parasites*). Таким образом, хоть и не умышленно, но мы сделали ошибочный вывод о том, что у норок может встречаться *T. leonina*.

Кроме того, в материале от норок были выделены различные кокцидии, чьё систематическое положение уточняли по морфологии после их споруляции [5] (Рисунок 2.2.13.1.6).

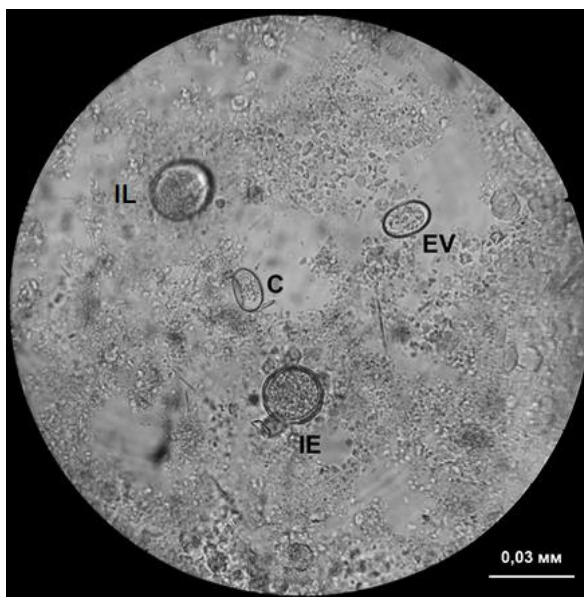


Рисунок 2.2.13.1.6 – Неспорулированные ооцисты кокцидий в фекалиях норки. Световая микроскопия методом светлого поля, увеличение x40 по объективу: IL – *I. laidlawi* IE – *I. ewersmanni*; EV – *E. vison*; C – coccidia (оригинал)

Причинами полиморфизма яиц некоторых нематод могут быть, как природные факторы, так и деформация яиц в процессе их обнаружения. В отношении яиц с нехарактерными заострениями более вероятной представляется версия полиморфизма, так как такие яйца были обнаружены и седиментационными, и флотационными методами, что минимизирует вероятность воздействия на них процедуры исследования. Вопрос о причинах

полиморфизма следует считать открытым. Он может быть как естественным (динамичность эволюционных процессов: закрепление/ изменение признака), так и противоестественным (в результате воздействия на самку антигельминтных препаратов).

Таким образом, при копрологической диагностике паразитозов полудиких животных источниками *ошибок первого рода* могут быть:

- 1) псевдопаразиты – объекты живой и неживой природы, такие как волосы животных, растительные фрагменты и прочее;
- 2) ложные паразиты (появляющиеся как из-за погрешностей протокола исследования на предиагностическом этапе, так и из-за особенностей диеты исследуемого животного).

Источниками *ошибок второго рода* могут быть:

- 1) полиморфизм возбудителей;
- 2) деформация паразитов во время исследования.

#### **2.2.13.2 Усовершенствование диагностики арахноэнтомозов пушных зверей**

С целью увеличения продуктивности животных, улучшения качества шкурок, снижения затрат на проведение лечебно-профилактических мероприятий, необходимо вовремя и в полном объеме проводить лабораторную диагностику арахноэнтомозов пушных зверей.

Для облегчения работы ветеринарных врачей нами предложены две полезные модели, которые относятся к ветеринарной медицине, в частности к устройствам для лабораторного исследования соскобов кожи для диагностики акарозов животных, на которые получены патенты на полезную модель РФ (RUS № 166382, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ от 04.03.2016 года; РФ RUS № 170610, зарегистрированный в Государственном реестре изобретений РФ от 12.12.2016 года).

Первое устройство для взятия соскоба с кожи животного (патент на полезную модель № 166382), включает корпус с жестко закрепленной с ним



рукояткой №3, в котором закреплен нож №5, отличающийся тем, что корпус выполнен с бортиками и передняя часть его снабжена направляющими для установки ножа, а рукоятка снабжена выемкой для размещения сосуда с просветляющей жидкостью и соединена с держателем покровного стекла (Рисунок 2.2.13.2.1).

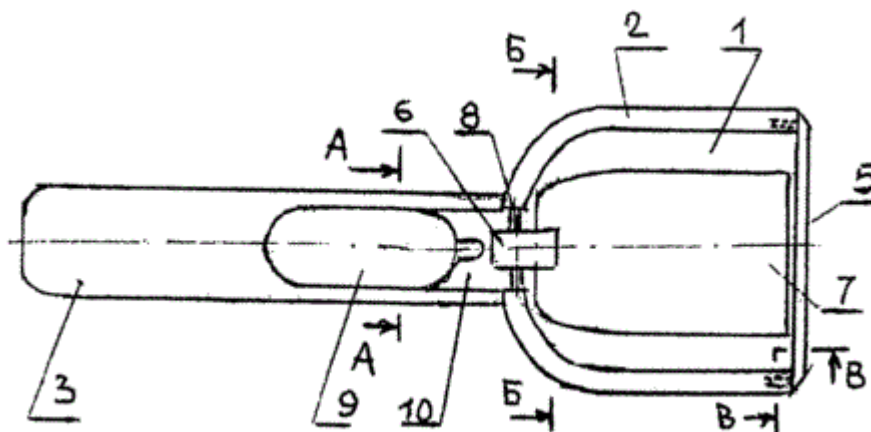


Рисунок 2.2.13.2.1 – Общий вид устройства для взятия соскоба с кожи животного (патент на полезную модель № 166382)

Вторая полезная модель также относится к устройствам для лабораторного исследования соскобов кожи для диагностики акарозов животных (патент на полезную модель № 170610). Данное устройство, является усовершенствованной моделью для взятия соскоба с кожи животного включает корпус с жестко закрепленной с ним рукояткой, в котором закреплен нож, причем корпус выполнен с бортиками и передняя часть его снабжена направляющими для установки ножа, а рукоятка снабжена выемкой для размещения сосуда с просветляющей жидкостью и соединена с держателем покровного стекла. В направляющих установлена с возможностью перемещения П-образная проволочная петля №4 на рисунке 2.2.13.2.2.

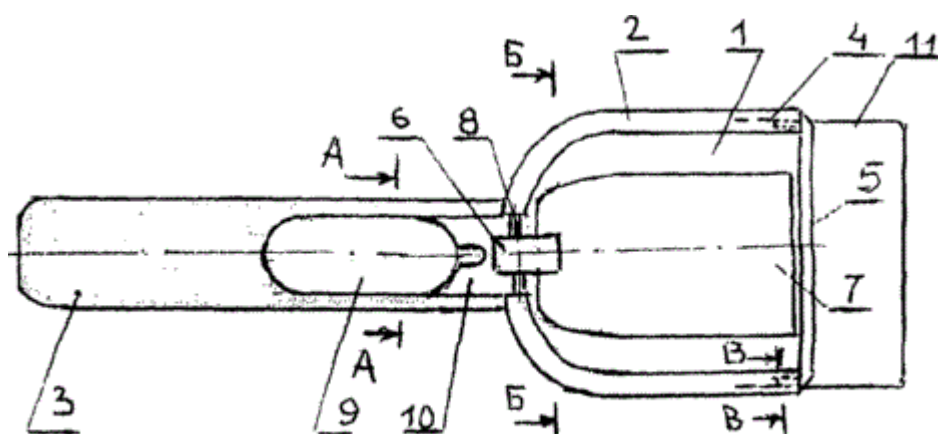


Рисунок 2.2.13.2.2 – Общий вид устройства для взятия соскоба с кожи животного (патент на полезную модель № 170610)

Техническим результатом предлагаемой нами модели, является упрощение конструкции устройства для взятия, соскоба с кожи животного. Технический результат достигается за счет того, что корпус выполнен с бортиками и передняя часть его снабжена направляющими для установки ножа, а рукоятка снабжена выемкой для размещения сосуда с просветляющей жидкостью и соединена с держателем покровного стекла.

Полезная модель используется следующим образом: модель держат почти параллельно поверхности кожи, производят глубокий, до появления крови, соскоб (срезают поверхностные слои кожи). Полученный таким образом соскоб оказывается в основание устройства, затем пальцем надавливают на сосуд размещенный в выемке ручки, просветляющая жидкость через отверстия поступает к соскобу, затем тем же пальцем надавливают на держатель покровного стекла, и оно опускается на основание и прижимает соскоб. После чего модель помещают в световой микроскоп и просматривают в нем.

Преимуществом предлагаемой полезной модели по сравнению с прототипом, является более простая конструкция устройства, благодаря чему можно сделать соскоб с тела животного, не применяя больше никаких специальных средств, кроме микроскопа.

## **2.2.14 ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ**

За последние годы Российская ветеринарная фармацевтическая промышленность активно развивается, что помогает нам не закупать дорогостоящие, зачастую низкого качества, импортные препараты, а производить самим качественные отечественные кокцидиостатики и антигельминтики. Также ведутся работы по созданию антибиотиков, иммуномодуляторов и других групп препаратов, которые обладают рядом преимуществ, такими как высокое качество, предсказуемость терапевтического действия. Эти препараты значительно дешевле аналогов зарубежного производства, поэтому их применение для лечения и профилактики болезней пушных зверей становится более доступным и эффективным по сравнению с импортными аналогами.

На сегодняшний день в ветеринарии применяется огромное количество лекарственных средств широкого спектра действия. Однако все они обладают определенной токсичностью и могут оказывать негативное влияние и даже вред организму животного. Поэтому первостепенное внимание уделяется поиску лекарственных средств или их комбинаций, обладающих комплексным профилактическим и терапевтическим потенциалом, позволяющим снизить риск возникновения побочных эффектов и осуществить полноценную терапию патологий, связанных с неблагоприятными факторами внутренней среды организма и окружающей среды. Особое значение при этом придается снижению токсичности препаратов и повышению их биодоступности.

Законодательные нормы, определенные законом РФ, устанавливают правила испытания и регистрации новых лекарственных препаратов. В связи с этим, складывается ситуация, требующая более тщательного и детального изучения лекарственных средств перед их применением на предмет безопасности и эффективности. Прежде чем приступать к клиническим испытаниям лекарственных средств нами были проведены доклинические испытания ряда препаратов разных фармакологических групп:

кокцидиостатики – «Стоп-кокцид», «Эйметерм суспензия 5%», «Ваусох 5%» системные антигельминтики – «Эпримек», «Иверсан»; антиоксидантный препарат – «Эмидонол 10%», антимикробный препарат – «Азициклин».

### 2.2.14.1 Сравнительное изучение острой токсичности препаратов «Стоп-кокцид», «Эйметерм» и «Ваусох 5%»

Результаты текущего этапа исследования опубликованы в статье «Сравнительная оценка острой токсичности препаратов стоп-кокцид, эйметерм суспензии 5% и Ваусох 5% при внутрижелудочном введении мышам» [117].

Для выпуска на Российский рынок препарата аналога и его регистрации новый препарат нужно протестировать на острую токсичность и биоэквивалентность, по сравнению с уже производимыми препаратами с тем же ДВ. Поэтому целью настоящего исследования является определение параметров острой токсичности толтразурила у мышей при введении в желудок препаратов «Стоп-кокцид» производства ООО НПО «Апи-сан» (Россия), «Эйметерм 5%» в виде суспензии производства ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита» (Россия), «Ваусох 5%» компании «Bayer Health Care AG» (Германия).

Данные по гибели мышей от введения препарата «Стоп-кокцид» производства ООО НПО «Апи-сан» (Россия) приведены в таблице 2.2.14.1.1.

Таблица 2.2.14.1.1 – Показатели гибели мышей от внутрижелудочного введения препарата «Стоп-кокцид» в разных дозировках

Доза по ДВ, мг/кг массы животного	Доза по препарату мл/кг массы животного	Кол-во животных в группе (n=10)	Кол-во животных	
			выжило	пало
250	5	10	10	0
500	10	10	10	0
750	15	10	10	0
1000	20	10	10	0
1250	25	10	10	0
1500	30	10	10	0

Данные по гибели мышей от введения препарата «Эймерм 5%» в виде суспензии производства ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита» (Россия) приведены в таблице 2.2.14.1.2.

Таблица 2.2.14.1.2 – Показатели гибели мышей от внутрижелудочного введения препарата «Эймерм 5%» в разных дозировках

Доза по ДВ, мг/кг массы животного	Доза по препарату мл/кг массы животного	Кол-во животных в группе (n=10)	Кол-во животных	
			выжило	пало
250	5	10	10	0
500	10	10	10	0
750	15	10	10	0
1000	20	10	10	0
1250	25	10	10	0
1500	30	10	10	0

Данные по гибели мышей от введения препарата «Ваусох 5%» компании «Bayer Health Care AG» (Германия) приведены в таблице 2.2.14.1.3.

Таблица 2.2.14.1.3 – Показатели гибели мышей от внутрижелудочного введения препарата «Ваусох 5%» в разных дозировках

Доза по ДВ, мг/кг массы животного	Доза по препарату мл/кг массы животного	Кол-во животных в группе (n=10)	Кол-во животных	
			выжило	пало
250	5	10	10	0
500	10	10	10	0
750	15	10	10	0
1000	20	10	10	0
1250	25	10	10	0
1500	30	10	10	0

Результаты представленных исследований не позволяют установить параметры острого токсического действия ( $LD_{16}$ ,  $LD_{50}$ ,  $LD_{84}$ ,  $LD_{100}$ ) исследуемых препаратов «Стоп-кокцид» производства ООО НПО «Апи-сан» (Россия), «Эймерм 5%» в виде суспензии производства ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита» (Россия), «Ваусох 5%» компании

«Bayer Health Care AG» (Германия) при их внутрижелудочном введении мышам, так как при применении препаратов в дозах от 250-1500 мг по ДВ/кг массы животного гибель мышей отсутствовала. При введении препаратов в дозах 250-1250 мг по ДВ/кг массы животного каких-либо заметно выраженных признаков интоксикации не регистрировали. Мыши из подопытных групп активно двигались, их поведенческие реакции, потребление корма, состояние шерстного покрова и слизистых оболочек, а также физиологические функции не отличались от таковых у животных контрольной группы. При введении препаратов в дозе 1500 мг по ДВ/кг массы животного у отдельных животных регистрировали незначительное угнетение, которое проявлялось в заторможенности, низкой активности, отсутствии аппетита и повышенной жажде. Однако через 1-2 дня признаки угнетения и другие побочные действия проходили, и животные восстанавливались до физиологической нормы.

Согласно гигиенической классификации ГОСТ 12.1.007-76 [44], в соответствии с установленными параметрами, препараты «Стоп-кокцид» производства ООО НПО «Апи-сан» (Россия), «Эйметерм 5%» в виде суспензии производства ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита» (Россия), «Ваусох 5%» компании «Bayer Health Care AG» (Германия), относятся к 4-му классу опасности – вещества малоопасные. Все исследуемые препараты в дозах от 250-1500 мг по ДВ/кг массы животного не приводили к гибели подопытных животных. Величина, характеризующая вариабельность смертельных доз, свидетельствует о незначительной опасности развития острого смертельного отравления препаратом в условиях однократного введения в желудок [117].

### 2.2.14.2 Изучение острой токсичности препарата «Эпримек»

Результаты этого этапа исследования опубликованы в статье «Острая и подострая токсичность препарата эпримек» [112].

Для определения острой токсичности препарат вводился в чистом виде насильно в желудок крыс при помощи металлического зонда. В ходе эксперимента были испытаны дозы в диапазоне – 5,0-11,0 г/кг. В течение 2-х недель за животными велось наблюдение. Результаты представлены в таблице 2.2.14.2.1.

Таблица 2.2.14.2.1 – Показатели острой токсичности препарата «Эпримек» при внутрижелудочном введении

Доза г/кг	5,0	7,0	8,0	9,0	11,0
Выжило	6	4	3	2	0
Погибло	0	2	3	4	6
Z	1,0	2,5	3,5	5,0	
D	2,0	1,0	1,0	2,0	
Zd	2,0	2,5	3,5	10,0	

\*Условные обозначения: Z – среднее арифметическое из числа животных, у которых отмечен учитываемый эффект под влиянием 2-х смежных доз; d – интервал между двумя смежными дозами.

Для определения ЛД<sub>50</sub> использовали формулу Кёрбера. ЛД<sub>50</sub> составила 8,3 г/кг. С помощью графического метода анализа зависимости «доза-эффект».

Для этого результаты гибели животных от каждой из суммарных доз были нанесены на график в двойном логарифмическом масштабе, а затем аппроксимированы прямой. От точек, соответствующих введенным дозам, был опущен перпендикуляр до пересечения с осью абсцисс. С помощью полученного графика определены ЛД<sub>16</sub> и ЛД<sub>84</sub>, которые составили – 6,7 г/кг и 10,3 г/кг, соответственно. Стандартная ошибка устанавливалась по формуле Гаддама и составила 0,47 г/кг.

Таким образом, ЛД<sub>50</sub> препарата «Эпримек» составляет 8,3±0,47 г/кг массы тела. Согласно классификации (ГОСТ 12.1.007-76), препарат – «Эпримек» малотоксичное соединение (4-й класс опасности) [44].

Клиническая картина острого отравления животных характеризовалась выраженным угнетением, вялостью животных, пониженной подвижностью. У подопытных животных наблюдались нарушения дыхания и координации движения. Смерть наступала от остановки дыхания. У выжившего животного явления токсикоза постепенно исчезали, но шерсть оставалась взъерошенной.

При проведении патологоанатомического вскрытия у погибших животных было отмечено некоторое полнокровие внутренних органов и умеренная гиперемия слизистой желудка и печени.

Для характеристики степени развития острого смертельного отравления, помимо величины ЛД<sub>50</sub>, указывающей на степень токсичности, определялась величина S (функция угла наклона прямой смертельных доз к оси абсцисс), характеризующая опасность препарата в условиях введения в желудок. В результате эта величина составила 1,24, что свидетельствует о незначительной опасности развития острого отравления препаратом в условиях однократного применения.

Учитывая, что на практике препарат будет вводиться внутримышечно, проведён аналогичный эксперимент на крысах при внутримышечном введении, результаты представлены в таблице 2.2.14.2.2

Таблица 2.2.14.2.2 – Показатели острой токсичности препарата «Эпримек» при внутримышечном введении

Доза г/кг	1,0	3,0	5,0	7,0	9,0
Выжило	6	3	2	1	0
Погибло	0	3	4	5	6
Z	1,5	3,5	4,5	5,5	
D	2,0	2,0	2,0	2,0	
Zd	3,0	7,0	9,0	11,0	

В результате среднесмертельная доза препарата «Эпримек» при внутримышечном введении составила  $4,0 \pm 0,13$  г/кг массы тела. Согласно классификации (ГОСТ 12.1.007-76), данный препарат – умеренно токсичен при внутримышечном введении [112].



### 2.2.14.3 Изучение кумулятивных свойств препарата «Эпримек»

Результаты этого этапа исследования опубликованы в статье «Изучение острой и субхронической токсичности препарата эпримек» [105].

При изучении кумулятивных свойств препарата «Эпримек» в подостром эксперименте использовался метод Лима и соавторов [328], который предусматривает введение препарата в условиях повторного эксперимента ( $24 \pm 4$  дня) в желудок белых крыс первые 4 дня в дозе, составляющей  $1/10$  от  $LD_{50 \text{ пер.}}$  (0,83 г/кг). Через каждые 4 дня эту дозу увеличивали в 1,5 раза. Длительность эксперимента составляла 20 дней. При этом учитывали, как материальную (гибель), так и функциональную кумуляцию (функциональные изменения). Полученные результаты представлены в таблице 2.2.14.3.1.

Таблица 2.2.14.3.1 – Данные к определению  $K_{\text{кум}}$  в условиях повторного введения препарата «Эпримек» в желудок белых крыс

Суммарная доза, г/кг	Гибель животных		Дни гибели
	Количество	%	
	погибшие/выжившие		
11,6	0/10	0	10
15,2	2/10	20	12
20,6	3/10	30	14
26,0	4/10	40	16
30,1	6/10	60	17
38,3	8/10	80	19
42,4	10/10	100	20

Как следует из таблицы, гибель животных начинается с 12 дня эксперимента при введении суммарной дозы 15,2 г/кг. Поэтому дальнейшее изучение подострой токсичности и расчет  $LD_{50\text{п}}$  будет проведен по результатам данного опыта аналогично обработке данных однократного опыта. Результаты представлены в таблице 2.2.14.3.2.

Таблица 2.2.14.3.2 – Определение  $K_{\text{кум}}$  препарата «Эпримек» в подостром эксперименте

Доза, г/кг	15,2	20,6	26,0	30,1	38,3	42,4
Выжило	8	7	6	4	2	0
Погибло	2	3	4	6	8	10
Z	2,5	3,5	5,0	7,0	9,0	
D	5,4	5,4	4,1	8,2	4,1	
Zd	13,5	18,9	20,5	57,4	36,9	

В результате  $LD_{50п}$  составила 27,7. Коэффициент кумуляции рассчитывался в отношении средних эффективных доз подострого и острого опытов. Данный коэффициент составил – 3,3. Согласно классификации Ю.С. Кагана [139], препарат относится к 3 классу опасности по способности накапливаться в организме, т.е. препарат обладает умеренно кумулятивными свойствами.

Для выявления функциональной кумуляции животные обследовались через каждые 4 дня на протяжении 16 дней (пока количество подопытных животных было достаточным для проведения статистической обработки). Определялась масса животных, регистрировался суммационно-пороговый показатель (СПП), анализировалась кровь (лейкоциты, эритроциты и гемоглобин), измерялась ректальная температура и оценивалась статическая и динамическая работа. Результаты представлены в таблицах 2.2.14.3.3 и 2.2.14.3.4.

Таблица 2.2.14.3.3 – Масса тела и суммационно-пороговый показатель (СПП) крыс в условиях подострого воздействия препарата «Эпримек» ( $M \pm m$ )

Показатели	Группы	8 день (n=10)	12 день (n=8)	16 день (n=6)
Масса тела, г	Опыт	219,0±2,1	220,0±2,0*	222,0±2,1*
	Контр.	221,0±2,0	229,0±1,8	231,0±2,3
СПП, усл.ед.	Опыт	3,1±0,5	4,3±0,5*	4,9±0,5*
	Контроль	2,8±0,5	3,2±0,3	3,0±0,5

Примечание: \* $P \leq 0,05$

Как следует из таблицы, на 12-й и 16-й дни у крыс наблюдается достоверное ( $P \leq 0,05$ ) снижение массы тела и повышение СПП. Кол-во

животных, участвующих в эксперименте, постепенно снижалось из-за гибели подопытных животных.

Результаты измерения ректальной температуры, анализ гематологических показателей и некоторых поведенческих реакций животных представлены в таблице 2.2.14.3.4.

Таблица 2.2.14.3.4 – Некоторые функциональные показатели крыс в подостром эксперименте

Показатели	Группы	8 день (n=10)	12 день (n=8)	16 день (n=6)
Гемоглобин, г/л	Контроль	151,5±4,8	143,1±2,1	138,4±3,5
	Опыт	148,0±3,5	149,9±3,1	141,0±3,8
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	Контроль	5,7±0,60	6,5±0,61	7,9±0,3
	Опыт	6,1±0,55	5,7±0,35	5,5±0,5*
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	Контроль	14,8±1,5	12,9±1,4	13,3±1,5
	Опыт	13,9±1,8	18,9±1,5*	15,3±2,1
Ректальная температура, °С	Контроль	38,1±0,35	38,8±0,5	38,9±0,5
	Опыт	37,9±0,30	37,2±0,9	36,1±0,5*
«Горизонтальный стержень» (сек)	Контроль	29,5±3,0	28,3±2,5.	30,9±2,5
	Опыт	30,5±2,0	29,4±2,1	26,5±2,0*
«Тест вставания», (за 3 мин)	Контроль	8,5±1,5	8,9±0,8	9,0±0,8
	Опыт	7,5±1,5	7,1±0,9	8,5±0,5

Примечание: \* $P \leq 0,05$

Как следует из представленных данных, на 12-й день наблюдалось достоверное повышение лейкоцитов. Однако нормализация данного показателя к 16 сут. свидетельствует об отсутствии критерия вредности данного изменения. Снижение эритроцитов к 16 сут. может свидетельствовать о развитии у животных анемии, однако нормальное содержание гемоглобина у животных на протяжении всего эксперимента ставит под сомнение вредное действие препарата на кровь. На 16 сут. было отмечено также снижение ректальной температуры и мышечной силы животных.

Также при изучении кумулятивных свойств препарата мы определяли показатель  $ET_{50}$  время гибели 50% животных. Данный эксперимент проводился на белых лабораторных мышах, вес животных варьировался от 18 до 23 г. Определение этого параметра является простым и довольно

объективным способом оценки кумулятивных свойств препарата по результатам однократного эксперимента. Результаты представлены в таблице 2.2.14.3.5.

Таблица 2.2.14.3.5 – Определение среднего времени гибели мышей в остром опыте при введении средства в желудок

Дозы (г/кг)	Время гибели в сутках						Среднее время гибели от каждой из введенных доз
	1	2	3	4	5	6	
5,0	-	-	-	-	-	-	0
7,0	-	-	-	2	-	-	$8/2=4,0$
8,0	-	-	1	-	2	-	$(3+10)/3=4,3$
9,0	-	-	1	2	1	-	$(3+8+5)/4=4,0$
11,0	-	-	3	3	-	-	$(9+12)/6=3,5$

После обработки полученных данных величина  $ET_{50}$  для препарата составило 4 суток (96 часов), что также свидетельствует о том, что данный препарат обладает умеренными кумулятивными свойствами.

Таким образом, учитывая, что в процессе данного опыта все достоверно изменившиеся показатели проявлялись на фоне гибели животных, можно считать, что и по степени функциональной кумуляции, «Эпримек» относится к классу умеренно-опасных препаратов. А поскольку эти изменения наблюдались в условиях более жёстких, чем реальные, опасность практического применения препарата можно исключить.

В ходе эксперимента было установлено, что «Эпримек» относится к 4 классу малотоксичных соединений при однократном введении в желудок ( $LD_{50}=8,3\pm 0,47$  г/кг ж.м.т.) и к 3 классу умеренно токсичных при внутримышечном введении ( $LD_{50}=4,0\pm 0,13$  г/кг массы тела), (ГОСТ 12.1007-76). Величина, характеризующая вариабельность смертельных доз, свидетельствует о незначительной опасности развития острого смертельного отравления препаратом в условиях однократного введения в желудок.

В условиях субхронического эксперимента средство обладает умеренными кумулятивными свойствами. Коэффициент кумуляции препарата «Эпримек» составил – 3,3, что относит средство к 3 классу опасности [105].

#### 2.2.14.4 Изучение субхронической токсичности препарата «Эпримек»

Результаты данного этапа исследования опубликованы в статье «Изучение острой и субхронической токсичности препарата эпримек» [105].

Эксперимент по изучению субхронической токсичности проводился в условиях лаборатории на 36 самцах крыс – весом 200-230 г в течение 90 дней.

При изучении субхронической токсичности животным вводили препарат «Эпримек» в дозах 200 мкг/кг, 300 мкг/кг, 600 мкг/кг, при этом масса тела подопытных крыс не отличалась достоверно от массы тела животных из контрольной группы. Изменения частоты дыхания и температуры тела животных, зарегистрированные на протяжении курса введения «Эпримека», не установлено, температура тела у животных подопытных групп, не отличалась от физиологической нормы и аналогичных показателей контрольных животных.

Показатели периферической крови крыс (гемоглобин, эритроциты, тромбоциты) групп животных, получающих препарат «Эпримек», не имели достоверных отличий от показателей животных контрольной группы (Таблица 2.2.14.4.1).

Таблица 2.2.14.4.1 – Функциональное состояние периферической крови крыс после завершения 3 месячного эксперимента

Показатели крови	Группы животных			
	Контроль	200 мкг/кг	300 мкг/кг	600 мкг/кг
Гемоглобин, г/л	150,5±3,8	156,3±4,3	140,3±3,5	158,3±1,5
Эритроциты ( $10^{12}/л$ )	6,8±0,6	6,2±0,9	6,5±1,5	7,2±1,1
Лимфоциты ( $10^{12}/л$ )	8,5±0,8	7,8±2,1	8,9±1,9	8,1±0,9
Лейкоциты ( $10^9/л$ )	8,9±0,6	8,3±1,9	9,3±1,5	7,7±1,5
Тромбоциты ( $10^9/л$ )	455,2±16,4	447,8±15,1	457,1±16,9	450,1±14,9
Гранулоциты ( $10^9/л$ )	1,2±0,5	1,5±0,5	1,9±1,8	1,8±3,1
Средние клетки ( $10^9/л$ )	3,2±0,6	2,9±0,9	3,0±1,5	3,5±1,8

Как следует из таблицы, все показатели, характеризующие функциональное состояние периферической крови у животных подопытных групп достоверно не отличаются от тех же показателей контрольных животных на всем протяжении опыта.

Также нами были изучены биохимические показатели крови животных подопытной группы, они не имели достоверных различий с контрольной группой, кроме показателя содержания белка в сыворотке крови, количество которого в конце опыта достоверно повышалось до значения –  $8,3 \pm 0,22$  г/л у животных, получавших дозу 600 мкг/кг (при  $P < 0,05$ ), в отличие от контрольных животных, чей показатель составлял –  $7,2 \pm 0,19$  г/л.

Функция центральной нервной системы (ЦНС) исследовалась у животных с помощью измерения суммационно-порогового показателя (СПП) и оценки работоспособности животных с помощью оценки «вертикального» и «горизонтального» компонентов. Данные представлены в таблице 2.2.14.4.2.

Таблица 2.2.14.4.2 – Некоторые показатели состояния ЦНС животных, подвергавшихся 5-ти кратному воздействию препарата «Эпримек» (\* $P < 0,05$ )

Показатели	200 мкг/кг (1 группа)	300 мкг/кг (2 группа)	600 мкг/кг (3 группа)	Контроль (контроль)
Суммационно-пороговый показатель (усл. ед.)	$3,6 \pm 0,5$	$3,3 \pm 0,5$	$4,9 \pm 0,3^*$	$3,1 \pm 0,5$
Вертикальная двигательная активность (сек.)	$5,6 \pm 0,9$	$5,9 \pm 1,4$	$5,0 \pm 1,4$	$6,1 \pm 0,8$
Горизонтальная двигательная активность (сек.)	$24,5 \pm 1,8$	$23,2 \pm 1,6$	$20,2 \pm 1,6$	$22,8 \pm 1,3$

Как следует из таблицы, у подопытных животных 1-й и 2-й групп (на уровне терапевтических доз) все показатели, характеризующие функциональное состояние ЦНС, достоверно не отличались от аналогичных показателей животных, служащих контролем. У подопытных животных 3-й группы (в 2 и 3 раза выше терапевтической дозы) отмечалось достоверное повышение СПП и тенденция к снижению двигательной активности (при  $P < 0,05$ ).

Осмотр показал, что все животные были достаточно активными, имели правильное телосложение, вес соответствующий возрастной норме, гладкий и

блестящий волосяной покров, блестящие обычной окраски слизистые оболочки, чистые и опрятные естественные отверстия [105].

### 2.2.14.5 Результаты дополнительных токсикологических исследований препарата «Эпримек»

Результаты этого этапа исследования опубликованы в статье «Биологическое действие эпримека» [102].

Целью настоящего исследования стало изучение биологического действия препарата «Эпримека» в условиях подострого эксперимента на лабораторных животных.

Результаты результатов дополнительных токсикологических исследований представлены в таблицах 2.2.14.5.1 и 2.2.14.5.5. В таблице 2.2.14.5.1 представлены данные определения массы тела животных.

Таблица 2.2.14.5.1 – Масса крыс (г) после в/м введения препарата «Эпримек» (\*P <0,05)

Сроки	Кол-во животных	Контроль	Доза препарата		
			200 мкг/кг	300 мкг/кг	600 мкг/кг
Фоновые показатели	8	211,0±2,5	210,3±2,5	212,8±2,4	209,5±2,0
Через 7 дней	8	220,2±3,0	219,3±4,5	216,3±3,5	210,1±2,5*

Как следует из таблицы, у подопытных животных в дозе 600 мкг/кг отмечалось достоверное снижение массы тела по сравнению с контролем. В терапевтических дозах этот показатель у подопытных и контрольных животных находился на одном уровне.

В таблице 2.2.14.5.2 представлены результаты оценки иммунного статуса животных и ректальной температуры.

Таблица 2.2.14.5.2 – Некоторые функциональные показатели крыс после в/м введения препарата «Эпримек» (\*P <0,05)

Показатели	200 мкг/кг	300 мкг/кг	600 мкг/кг	Контроль
	(1-я группа)	(2-я группа)	(3-я группа)	(4-я группа)
Ректальная температура, °С	37,9±0,5	38,8±0,3	39,8±0,3*	38,1±0,5
Иммуноглобулины(мг/кг)	20,5±0,5	22,1±0,6	19,3±0,5*	21,3±0,1

Как следует из таблицы, все выбранные показатели животных, получавших препарат в дозах 200 и 300 мкг/кг, статистически достоверно не отличались от контрольных величин. В 3-й группе было отмечено достоверное повышение температуры тела и снижение количества иммуноглобулинов, что свидетельствует об общем ослаблении детоксикационной защиты организма.

Результаты анализа периферической крови животных представлены в таблице 2.2.14.5.3.

Таблица 2.2.14.5.3 – Функциональное состояние периферической крови крыс после окончания 7 дневного эксперимента

Показатели крови	Группы животных			
	Контроль	200 мкг/кг	300 мкг/кг	600 мкг/кг
Гемоглобин, г/л	150,5±3,8	156,3±4,3	149,3±3,5	158,3±1,5
Эритроциты (10 <sup>12</sup> /л)	6,8±0,6	6,2±0,9	6,5±1,5	7,2±1,1
Тромбоциты (10 <sup>9</sup> /л)	455,2±16,4	447,8±15,1	457,1±16,9	450,1±14,9
Лейкоциты (10 <sup>9</sup> /л)	8,9±0,6	8,3±1,9	9,3±1,5	7,7±1,5
Лимфоциты (10 <sup>12</sup> /л)	8,5±0,8	7,8±2,1	8,9±1,9	8,1±0,9
Средние клетки (10 <sup>9</sup> /л)	3,2±0,6	2,9±0,9	3,0±1,5	3,5±1,8
Гранулоциты (10 <sup>9</sup> /л)	1,2±0,5	1,5±0,5	1,9±1,8	1,8±3,1



Как следует из таблицы, все показатели, характеризующие функциональное состояние периферической крови у животных подопытных групп достоверно не отличаются от тех же показателей контрольных животных на всем протяжении опыта.

Результаты изучения биохимических показателей, характеризующих функциональное состояние печени и почек животных, представлены в таблице 2.2.14.5.4.

Таблица 2.2.14.5.4 – Результаты анализа биохимических показателей функционального состояния печени и почек

Функция	Показатели	200 мкг/кг (1-я группа)	300 мкг/кг (2-я группа)	600 мкг/кг (3-я группа)	Контроль (4-я группа)
Почки	Белок, (в мг/%)	33,7±4,1	34,6±5,2	32,8±5,0	34,1±4,0
	Хлориды, (в мг/мл)	2,7±0,15	3,1±0,50	2,9±0,41	2,6±0,25
Печень	Гиппуровая к-та, (мл)	108,1±6,9	111,5±6,5	124,5±3,8	105,6±4,3
	Общий белок в сыворотке крови, (г/%)	5,16±0,9	5,48±0,8	5,45±0,5	6,36±0,5
	SH-группы, (мкмоль/л)	14,5±0,7	15,3±0,48	15,3±1,0	15,1±1,5

Как следует из таблицы, при внутримышечном введении препарата «Эпримек» величины всех показателей функционального состояния печени и почек подопытных животных колебались в пределах контрольной группы и достоверно от них не отличались [102].

#### 2.2.14.6 Изучение раздражающего, аллергического и сенсibiliзирующего действия препарата «Эпримек»

Результаты текущего этапа исследования опубликованы в статье «Биологическое действие эпримека» [102]. Для изучения раздражающего и аллергического действия препарата «Эпримек» проведены три серии опытов.

Первая серия опытов производилась для выявления контактного дерматита, а также с целью получения оптимальной дозы. Были испытаны три концентрации препарата – 25, 50 и 100%. В результате, ни одна из

концентраций не вызвала раздражения кожи, поэтому для сенсibilизации была выбрана 100%, концентрация.

Вторую серию опытов проводили путем 20-ти повторных накожных аппликаций 100%-м препаратом на участок боковой поверхности туловища. Первое тестирование проводили через 10 аппликаций. Результаты показали отсутствие каких-либо признаков сенсibilизации кроликов к препарату. У животных не отмечено покраснения кожи, расчесов, отека, утолщения кожной складки, изменений цвета кожи. Не наблюдалось также каких-либо проявлений беспокойства в поведении подопытных животных в сравнении с контролем. Опыт продолжили и довели число аппликаций до 20, после чего проводили повторное тестирование, которое дало аналогичные результаты.

Таким образом, был сделан вывод о том, что препарат в данной концентрации и на данном виде животных не обладает, как раздражающим, так и аллергическим действием на организм.

Для количественной оценки сенсibilизации использовалась реакция специфического лизиса лейкоцитов (РСЛЛ), а также подсчет количества эозинофилов и базофилов. Результаты представлены в таблице 2.2.14.6.1.

Таблица 2.2.14.6.1 – Результаты оценки сенсibilизирующего действия препарата «Эпримек»

Группы	РСЛЛ, (%)	Эозинофилы, (%)	Базофилы, (%)
Контроль	8,3±0,5	3,6±0,42	0,05±0,001
Опыт	7,6±0,7	4,1±0,38	0,06±0,001

Как следует из таблицы 2.2.14.6.1, количественная оценка сенсibilизации к препарату показала, что «Эпримек» не вызывает аллергической реакции у животных.

Третья серия опытов по изучению раздражающего, аллергического и сенсibilизирующего действия препарата «Эпримек» заключалась в нанесении препарата на слизистые оболочки глаз кроликов, препарат в количестве 3-х капель вводили в конъюнктивальный мешок правого глаза.

Левый глаз служил контролем. В результате проведенного нами эксперимента, каких-либо изменений со стороны слизистой глаз у подопытных животных не наблюдалось.

Изучение кожно-резорбтивного действия препарата «Эпримек» проводилось на белых мышах.

Как показали исследования, подопытные мыши на протяжении всего эксперимента практически не отличались от контрольных животных.

Клиническая картина интоксикации у животных отсутствует. При осмотре хвостов каких-либо признаков раздражения не выявлено.

Для объективной оценки кожно-резорбтивного действия препарата, было проведено обследование белых мышей по некоторым показателям. После взвешивания у животных был определен суммационно-пороговый показатель и взята кровь для определения гемоглобина, лейкоцитов и эритроцитов. Результаты приведены в таблице 2.2.14.6.2.

Таблица 2.2.14.6.2 – Состояние некоторых показателей белых мышей после аппликации препарата «Эпримек» на кожу хвостов в течение 2-х недель

Группы	Масса, (г)		СПП, (усл. ед)	гемоглобин, (г/л)	лейкоциты, (10 <sup>9</sup> /л)	эритроци- ты, (10 <sup>12</sup> /л)
	До воздействия	После воздействия				
Опыт	23,7±0,31	24,9±0,40	4,0±0,20	126,6±2,13	6,955±0,8	7,985±1,1
Контр.	23,1±0,40	25,6±0,38	3,7±0,15	129,2±2,18	7,452±0,5	7,161±0,8

Как следует из таблицы 2.2.14.6.2, все показатели у животных из подопытной группы статистически достоверно не отличались от тех же показателей у группы контрольных животных.

У тех же животных проведена регистрация показателей, характеризующих двигательную активность. Результаты представлены в таблице 2.2.14.6.3.

Как следует из представленных данных, показатели, характеризующие работоспособность животных, как у контрольных, так и подопытных мышей находятся на одном уровне и достоверно не отличаются друг от друга.

Таблица 2.2.14.6.3 – Статистическая и динамическая работа белых мышей после воздействия препарата «Эпримек» на кожу хвостов

Группы	«Тест вставание»	Удержание на стержне
Контроль	7,6±1,5	22,5±3,5
Опыт	6,9±1,9	23,6±3,8

Таким образом, данные, полученные в настоящем опыте, показывают, что препарат «Эпримек» не способен проникать через кожу в количестве, вызывающем отравление, т.е. не обладает кожно-резорбтивным действием.

В условиях 7-и кратного внутримышечного введения препарата белым крысам в терапевтических дозах 200 мкг/кг, каких-либо отрицательных симптомов отравления крыс обнаружено не было. В группе животных, которым «Эпримек» вводился в дозе в 3 раза больше терапевтической дозы (600 мкг/кг), в конце эксперимента обнаружено снижение массы тела, мышечной силы животных, повышение СПП и ректальной температуры.

Кожно-резорбтивное действие препарата «Эпримек» отсутствует. При 5-и кратном нанесении «Эпримека» на кожу гибели животных, изменений функциональных показателей, а также раздражения кожи не выявлено. Препарат «Эпримек» не обладает раздражающим действием на слизистую оболочку глаз кроликов. «Эпримек» не оказывает аллергического действия при многократном (20 аппликаций) контакте с кожей.

Следующим этапом наших исследований было комплексное изучение доклинических свойств антиоксидантного препарата «Эмидонол 10%», его острая и субхроническая токсичность, кумулятивные, местно-раздражающие и аллергенные свойства, а также эмбриотоксическое и тератогенное действие.

#### **2.2.14.7 Определение острой токсичности препарата «Эмидонол 10%»**

Результаты текущего этапа исследования опубликованы в статье «Острая и субхроническая токсичность препарата Эминол 10%» [148].

Для определения острой токсичности при введении препарата «Эмидонол 10%» в желудок крыс были испытаны дозы – 3,0; 4,5; 6,0; 8,5 и 10,0

г/кг. В течение 2-х недель за животными велось наблюдение. Результаты представлены в таблице 2.2.14.7.1.

Таблица 2.2.14.7.1 – Результаты острой токсичности препарата при пероральном введении

Доза г/кг	3,0		4,5		6,0		8,5		10,5
Выжило	6		6		6		6		6
Погибло	0		0		0		0		0
Z	0		0		0		0		
D	1,5		1,5		2,5		2,0		
Zd	0		0		0		0		

\*Обозначения: Z – среднее арифметическое из числа животных, у которых отмечен учитываемый эффект под влиянием 2-х смежных доз; d – интервал между двумя смежными дозами.

Как следует из таблицы, в результате введения доз в диапазоне 3-10,5 г/кг гибели животных не выявлено. Максимально-переносимой дозой следует считать дозу 10,5 г/кг.

При внутрибрюшинном введении в диапазоне доз 1,0-3,5 г/кг, гибель животных наступала от дозы 1,5 г/кг. ЛД<sub>50</sub> – 2,5 г/кг по лекарственной форме.

Клиническая картина интоксикации не выражена. Наблюдалась лишь некоторая заторможенность животных при введении дозы 10,5 г/кг, что связано с введением значительных объемов данного средства. Через 2-3 дня все подопытные животные практически не отличались от контрольных.

После завершения острого эксперимента было проведено патологоанатомическое вскрытие животных, макроанатомических изменений печени, почек, сердца и селезенки выявлено не было.

В результате проведенных исследований нами сделаны следующие выводы: препарат «Эмидонол 10%» при внутрижелудочном введении максимальной дозы 10,5 г/кг не вызывает гибели крыс, его можно считать практически нетоксичным соединением. Согласно классификации (ГОСТ 12.1.007-76), препарат – малоопасное соединение (4-й класс опасности). При внутрибрюшинном введении Эмидонола 10% крысам ЛД<sub>50</sub> составила 2,5 г/кг,

что согласно ГОСТ 12.1.007-76 позволяет отнести препарат к 3 классу опасности [44].

### 2.2.14.8 Определение субхронической токсичности препарата

#### «Эмидонол 10%»

Результаты этого этапа исследования опубликованы в статьях «Токсикологические свойства препарата Эмидонол 10%» и «Острая и субхроническая токсичность препарата Эминол 10%» [119, 148].

При изучении субхронической токсичности на протяжении всего эксперимента, в течение 90 дней, масса тела подопытных крыс не отличалась достоверно от массы тела животных из контрольной группы. Изменений частоты дыхания и температуры тела животных, зарегистрированных на протяжении курса введения «Эмидонола 10%», не установлено, температура тела у животных подопытных групп не отличалась от физиологической нормы и аналогичных показателей контрольных животных.

Показатели периферической крови крыс (лейкоциты, эритроциты, тромбоциты) групп животных, получающих препарат «Эмидонол 10%», не имели достоверных отличий от показателей животных контрольной группы (Таблица 2.2.14.8.1).

Таблица 2.2.14.8.1 – Состояние периферической крови крыс после введения препарата «Эмидонол 10%» на 90 день эксперимента

Показатели крови	Группы животных		
	контроль	1 группа	2 группа
Эритроциты, $\times 10^{12}$	7,9 $\pm$ 0,3	8,4 $\pm$ 0,25	8,3 $\pm$ 0,5
Гемоглобин, г/л	120,8 $\pm$ 0,21	130,8 $\pm$ 0,45	120,7 $\pm$ 1,20
Лейкоциты, $\times 10^9$	9,32 $\pm$ 0,99	12,3 $\pm$ 1,0	11,5 $\pm$ 1,3
Тромбоциты Т/мкл	670 $\pm$ 46,3	716,5 $\pm$ 55,9	695,0 $\pm$ 41,3

Также не было выявлено достоверных отличий по содержанию белков в плазме крови животных подопытных групп.

Биохимические показатели крови животных подопытной группы не имели достоверных различий с контрольной группой (Таблица 2.2.14.8.1.2).

Таблица 2.2.14.8.2 – Биохимические показатели крови крыс после введения препарата «Эмидонол 10%»

Показатели	Группы животных		
	1 группа	2 группа	контроль
Глюкоза, ммоль/л	5,7±0,04	6,2±0,01	5,5±0,04
АЛТ, МЕ/л	65,1±4,59	74,5±2,7	74,3±2,65
АСТ, МЕ/л	164,1±3,96	184,4±6,52	176,0±9,79
ЩФ, МЕ/л	261±34,7	284,7±10,6	263,2±9,37
Холестерин, ммоль/л	26,0±2,31	34,2±1,1	34,7±1,2

Осмотр показал, что все животные были достаточно активными, имели правильное телосложение, вес, соответствующий возрастной норме, гладкий и блестящий волосяной покров, блестящие, обычной окраски слизистые оболочки, чистые и опрятные естественные отверстия.

При макроскопическом исследовании внутренних органов каких-либо патологических изменений обнаружено не было.

Толщина подкожной жировой клетчатки была в пределах нормы, признаков отеков и кровоизлияний не выявлено. Мышцы и костная система развиты соответственно возрасту.

*Полости тела.* Брюшная полость содержала следы светлой, прозрачной жидкости, брюшина была гладкая, влажная, блестящая, брыжейка тонкого и толстого кишечника умеренно развита, мелкодольчатого строения. Отмечалось более выраженное развитие брыжейки у некоторых особей. Внутренние органы расположены правильно, спаек и сращений не выявлено. Плевральная полость содержала следы прозрачной светло-желтой жидкости, листки висцеральной и париетальной плевры были гладкие, влажные, блестящие, спаек и сращений, патологических наложений не выявлено. Полость перикарда свободна, влажная, без спаек и сращений.

*Центральная нервная система.* Головной мозг мягковато-эластичной консистенции, на разрезе светло-серого цвета, с гладкими полушариями переднего мозга и хорошо развитыми обонятельными долями. Оболочки головного мозга не напряжены, жемчужного цвета, прозрачные.

*Органы эндокринной системы.* Тимус серовато-розового цвета, не увеличен. У некоторых животных отмечалось более выраженное замещение ткани тимуса жировой клетчаткой, что не является патологией. Щитовидная железа была розоватого цвета с хорошо различимыми паращитовидными железами. Надпочечники без каких-либо изменений, желтоватого цвета, типично расположены.

*Органы дыхания.* Слизистая оболочка гортани, трахеи, бронхов розоватого цвета, блестящая, гладкая, влажная. В просвете бронхов небольшое количество прозрачного слизистого секрета. Правое легкое несколько большего размера по сравнению с левым, представлено четырьмя долями. Левое легкое состоит из одной доли. Легкие однородной плотности, светло-розового цвета вся ткань легких воздушная, без признаков отека и воспаления.

*Органы кровообращения.* Жировая клетчатка под эпикардом отсутствует, сердце имеет массу, соответствующую возрасту животных, желудочки не утолщены. Полости сердца не расширены. Пристеночный эндокард гладкий, блестящий, влажный. Клапанный аппарат сформирован правильно. Миокард красноватого цвета, эластичной консистенции, влажный, блестящий. Коронарные артерии без особенностей, спадаются на разрезе. Интима аорты и легочной артерии желтоватого цвета, влажная, гладкая, блестящая.

*Органы пищеварения.* Слизистая оболочка пищевода, желудка и тонкого кишечника розоватого цвета, блестящая, влажная. Печень обычного размера и строения, эластичной консистенции, с тонкой прозрачной капсулой и гладкой поверхностью, на разрезе темно-красного цвета. Поджелудочная железа представлена тяжом серовато-белой студенистой ткани, расположенной в брыжейке.

*Мочеполовые органы.* Почки одинакового размера, с легко снимающейся капсулой, бобовидной формы, типично расположены. На разрезе отмечается четкое деление на корковое и мозговое вещество. Лоханки



не расширены, слизистая оболочка блестящая, влажная, серовато-розового цвета. Половые органы без каких-либо патологических изменений.

*Органы кроветворной системы.* Лимфатические узлы многочисленные, определяются в брыжейке тонкого кишечника, эластичной консистенции, серовато-белого цвета, размером до 0,3 см в диаметре. Селезенка обычного размера, узкая, уплощена, вишневого цвета, с гладкой прозрачной капсулой, мягковатой консистенции.

После проведения субхронического эксперимента было проведено патологоанатомическое вскрытие животных, макроанатомических изменений печени, почек, сердца и селезенки выявлено не было.

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что при 120-дневном воздействии препарата отсутствовали существенные различия в подопытных группах и в контроле со стороны показателей клеточного состава периферической крови, биохимических тестов, характеризующих обмен веществ и функции жизненно важных органов, а также со стороны состояния выделительной системы.

Все вышесказанное указывает на то, что препарат «Эмидонол 10%» и его ДВ – Эмидонол® - 100 мг можно считать практически нетоксичным соединением.

#### **2.2.14.9 Изучение кумулятивных, эмбриотоксических и тератогенных свойств препарата «Эмидонол 10%»**

Результаты данного этапа исследования опубликованы в статьях «Кумулятивные свойства препарата Эмидонол 10%» и «Эмбриотоксическое и тератогенное действие Эмидонола 10% раствора» [70, 71].

При изучении функциональной кумуляции проводилась оценка ряда показателей: регистрировалась масса тела, измерялась ректальная температура, определялся суммационно-пороговый показатель (СПП), проводился анализ периферической крови (гемоглобин, лейкоциты, эритроциты), регистрировались некоторые поведенческие реакции животных.

Длительность эксперимента составила 15 дней. Всего введено три максимально-введенной дозы (МВД) введенных однократно.

Таблица 2.2.14.9.1 – Результаты определения гибели животных в подостром эксперименте

Суммарная доза, г/кг	Гибель животных		Дни гибели
	Количество	%	
22,0	0/10	0	1-11
24,0	1/10	10	12
26,0	2/10	30	13
28,0	4/10	40	14
30,0	5/10	50	15

На основании полученных результатов (Таблица 2.2.14.9.1) проведен расчет среднесмертельной дозы в повторном эксперименте. Поскольку 100% гибель получить не удалось, использовать формулу Кербера для определения ЛД<sub>50</sub>, не представляется возможным. Поэтому этот параметр, а также ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>84</sub> и ЛД<sub>100</sub> были рассчитаны с помощью графического метода анализа «доза – эффект». Для этого результаты гибели животных от каждой из суммарных доз были нанесены на график в двойном логарифмическом масштабе, а затем аппроксимированы прямой. От точек, соответствующих введенным дозам, был опущен перпендикуляр до пересечения с осью абсцисс. С помощью полученного графика определены названные параметры токсичности, которые составили – ЛД<sub>16</sub>=24,3 г/кг; ЛД<sub>50</sub>=32 г/кг; ЛД<sub>84</sub>=41,0 г/кг; ЛД<sub>100</sub>=50,0 г/кг.

Стандартная ошибка устанавливалась по формуле Гаддама:

$$S = (K * s * d) / n;$$

где K=0.564; d (средняя интервала между дозами) = 2,0; s = (ЛД<sub>84</sub> – ЛД<sub>16</sub>) / 2 = (42-24,3) / 2 = 8,35 г/кг.

При этом использовались результаты таблицы 2.2.14.9.2.

Таблица 2.2.14.9.2 – Данные к определению ЛД<sub>50</sub> в условиях повторного введения препарата «Эмидонол 10%» в желудок белых крыс

Доза, г/кг	22,0		24,0		26,0		28,0		30,0
Выжило	10		9		8		6		5
Погибло	0		1		2		4		5
*Z		0,5		1,5		3,0		4,5	
D		2,0		2,0		2,0		2,0	
Zd		1,0		3,0		6,0		9,0	

\*Обозначения: Z- среднее арифметическое из числа животных, у которых отмечен учитываемый эффект под влиянием 2-х смежных доз; d- интервал между двумя смежными дозами.

В результате стандартная ошибка ( $\pm S$ ) составила:

$$S = \frac{\sqrt{0.564 * 8.35 * 2.0}}{10} = 0.97 \frac{\text{г}}{\text{кг}}$$

Таким образом, расчетная ЛД<sub>50п</sub> Эмидонола 10% в условиях повторного введения в желудок белых крыс составляет 32,0 $\pm$ 0,97 г/кг массы тела.

Коэффициент кумуляции, как правило, рассчитывается по отношению средне эффективных доз подострого и острого опытов. Однако, поскольку ЛД<sub>50</sub> в остром опыте определить не удалось, K<sub>кум</sub> определяется по следующему соотношению:

$$K_{\text{кум}} = \frac{LD_{50}}{МПД}$$

В результате данный коэффициент составил – 3,2, что согласно классификации Ю.С. Кагана, относит препарат «Эмидонол 10%» к умеренно кумулятивным соединениям (3 класс опасности).

Для выявления функциональной кумуляции животные обследовались на 5, 10 и 15 дни опыта (при этом животные получили суммарные дозы – 10, 20 и 30 г/кг, соответственно). Результаты представлены в таблицах 2.2.14.9.3-2.2.14.9.4.

В таблице 2.2.14.9.3 представлены результаты изменения массы тела животных и суммационно-пороговый показатель (СПП).

Таблица 2.2.14.9.3 – Масса тела и суммационно-пороговый показатель у крыс в условиях подострого воздействия «Эмидонола 10%»

Показатели	группа	5 день (n=10)	10 день (n=10)	15 день (n=9)
Масса тела (г)	Контроль	190,5 $\pm$ 2,5	209,8 $\pm$ 2,1	222,4 $\pm$ 2,5
	опыт	185,8 $\pm$ 2,8	198,5 $\pm$ 2,0	219,3 $\pm$ 3,2
СПП, усл. ед.	Контроль	3,3 $\pm$ 0,8	3,4 $\pm$ 0,5	3,3 $\pm$ 0,4
	опыт	3,2 $\pm$ 0,5	3,6 $\pm$ 0,6	5,5 $\pm$ 0,5 P<0,05
	Восстановительный период	-	-	Контроль – 3,5 $\pm$ 0,9 Опыт –3,8 $\pm$ 1,2

Как следует из таблицы, у подопытных животных на 15 день после получения суммарной дозы 30 г/кг отмечалось повышение суммационно-порогового показателя (СПП) (при  $P \leq 0,05$ ) и, как следствие, наблюдалась заторможенность животных. Восстановление СПП наступало уже через 3 дня после прекращения дачи препарата.

Результаты изменения ректальной температуры, анализа гематологических показателей и некоторых поведенческих реакций животных представлены в таблице 2.2.14.9.4.

Как следует из представленных данных, все показатели, характеризующие функциональное состояние периферической крови, а также ректальная температура у подопытных животных достоверно не отличались от контроля на всем протяжении опыта.

Что касается поведенческих показателей, наблюдалась некоторая тенденция к их снижению у подопытных животных на 15-й день воздействия, однако разница по сравнению с контролем была статистически не достоверной.

Таблица 2.2.14.9.4 – Состояние некоторых функциональных показателей крыс в подостром эксперименте

Показатели	Группы	5 день	10 день	14 день
Гемоглобин, г/л	Контроль	113,2±2,1	111,7±2,4	112,6±2,1
	Опыт	112,9±3,1	110,4±2,8	113,0±2,9
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$	Контроль	5,4±0,35	5,8±0,31	6,1±0,32
	Опыт	6,1±0,41	6,3±0,45	5,6±0,45
Лейкоциты, $\times 10^9/л$	Контроль	11,3±2,1	12,1±2,3	12,8±2,5
	Опыт	10,9±2,4	12,8±2,4	13,1±2,1
Ректальная температура, °С	Контроль	37,1±0,25	37,2±0,21	37,2±0,5
	Опыт	36,9±0,3	37,5±0,20	36,9±0,5
«Горизонтальный стержень» (сек.)	Контроль	32,3±2,5	33,8±2,3	31,2±2,5
	Опыт	33,4±2,1	40,1±3,1	29,9±2,1
«Тест вставания», (за 3 мин.)	Контроль	5,8±1,45	5,8±1,05	6,3±1,19
	Опыт	5,5±1,35	6,1±1,30	5,6±1,52

«Эмидонол 10%» обладает слабовыраженной, как материальной, так и функциональной кумуляцией, проявляющейся только в результате получения

в конце эксперимента больших суммарных доз, в несколько раз превышающих рекомендуемую для практического применения.

Таблица 2.2.14.9.5 – Определение мутагенного действия «Эмидонола 10%»

Показатели	Группы подопытных мышей					
	Контроль	1	2	3	4	5
Общая эмбриональная смертность, %	16,5 ± 2,4	18,3±2,1	16,2±2,2	18,5±2,0	15,1±2,3	19,2±1,2
Предимплантационная смертность, ед.	0,1±0,01	0,09±0,01	0,11±0,01	0,10±0,01	0,11±0,01	0,10±0,01
Постимплантационная смертность, ед.	0,08±0,01	0,08±0,01	0,06±0,01	0,08±0,01	0,06±0,01	0,06±0,01

Из таблицы 2.2.14.9.5 видно, что показатели у подопытной группы достоверно не отличались во время эксперимента от показателей животных контрольной группы. «Эмидонол 10%» не вызывает наследственных изменений в половых клетках при внутрибрюшинном введении препарата самцам белых крыс на разных стадиях сперматогенеза и не приводит к гибели потомков первого поколения в период эмбрионального развития ( $P \leq 0,05$ ).

Результаты эксперимента по определению эмбриотоксического и тератогенного действия «Эмидонола 10%», представлены в таблице 2.2.14.9.6.

Таблица 2.2.14.9.6 – Результаты эксперимента по определению эмбриотоксического и тератогенного действия «Эмидонола 10%»

Показатели	Группы животных		
	ПОДОПЫТНЫЕ		Контрольная
	20 мг/кг	100 мг/кг	
<b>Эмбриотоксическое действие</b>			
Количество живых эмбрионов на 1 самку	9,8 ± 0,31	9,8 ± 0,41	10,0 ± 0,31
Количество мертвых эмбрионов на 1 самку	1,1 ± 0,52	1,4 ± 0,41	1,3 ± 0,42
Количество желтых тел на 1 самку	13,2 ± 0,40	16,2 ± 0,43	12,8 ± 0,50
Количество мест имплантации на 1 самку	10,6 ± 0,41	10,9 ± 0,42	10,7 ± 0,51
Общая эмбриональная гибель, %	11,4 ± 0,72	12,7 ± 0,35	12,4 ± 0,21
Доимплантационная гибель, %	3,3 ± 0,41	3,0 ± 0,35	2,9 ± 0,24
Постимплантационная гибель, %	10,1 ± 0,73	9,4 ± 0,42	9,1 ± 0,40
Выживаемость, %	88,5 ± 10,4	87,2 ± 9,2	89,2 ± 10,5
<b>Тератогенное действие</b>			
Средняя масса плаценты, мг	314,5 ± 40,4	310,4 ± 45,3	315,6 ± 40,9
Средний вес крысят, мг	6153 ± 200,2	6215 ± 196,2	6195 ± 242,1
Средняя длина туловища крысят, мм	47,5 ± 0,5	46,9 ± 0,74	47,8 ± 0,45
Уродства, аномалии развития внутренних органов и скелета	Нет	Нет	Нет

**Вывод.** Раствор «Эмидонол 10%» не обладает эмбриотоксическим и тератогенным действиями при многократном подкожном введении крысам в дозе, превышающей терапевтическую дозировку (100 мг/кг) в 5 раз.

Результаты, полученные в ходе экспериментов, были использованы для регистрации препаратов «Эмидонол 5%» и «Эмидонол 10%» (77-3-12.18-4280№ПВР-3-21.13/02944 от 18 октября 2018 г.).

#### **2.2.14.10 Изучение раздражающих, кожно-резорбтивных свойств и дополнительных токсикологических исследований «Эмидонола 10%»**

Результаты этого этапа исследования опубликованы в статье «Изучение местно-раздражающих средств и аллергических свойств препарата Эмидонол 10%» [69].

Исследования раздражающих свойств препарата были проведены на 12 подопытных кроликах. Эксперимент показал, что нанесение «Эмидонола

10%» на кожу в дозах 0,2-0,4 мл/кг ежедневно в течение 15 суток не вызывало у кроликов изменений кожного покрова. Не отмечено покраснения кожи, утолщения кожной складки и выпадения подстриженной шерсти и шерсти, граничащей с выстриженными участками.

При пальпации выстриженных участков кожи не наблюдали болезненной реакции у животных. Данные гематологических показателей свидетельствуют, что нанесение препарата на выстриженные участки кожи кроликов в дозах 0,2 и 0,4 мл в течение 15 суток существенно не изменяли картину крови животных (Таблица 2.2.14.10.1 и 2.2.14.10.2).

Таблица 2.2.14.10.1 – Гематологические показатели кроликов до и после многократного нанесения препарата в дозе 0,2 мл/кг в течение 15 дней (n=6)

Сроки наблюдения	Гемоглобин г/л	Эритроциты $10^{12}/л$	Лейкоциты $10^9/л$	СОЭ мм/ч
До опыта	70,2±0,2	3,8±0,3	6,7±0,4	2,0±0,2
1 час	80,8±0,3	4,4±0,1	6,4±0,3	2,8±0,1
1 сутки	60,0±0,5	4,2±0,2	6,8±0,2	3,1±0,3
5 суток	70,4±0,2	4,0±0,3	7,3±0,1	2,8±0,3
10 суток	80,2±0,4	4,3±0,3	6,9±0,3	2,6±0,2

Таблица 2.2.14.10.2 – Гематологические показатели кроликов до и после нанесения препарата в дозе 0,4 мл/кг в течение 15 дней (n=6)

Сроки наблюдения	Гемоглобин г/л	Эритроциты $10^{12}/л$	Лейкоциты $10^9/л$	СОЭ мм/ч
До опыта	60,4±0,2	5,0±0,3	6,4±0,4	2,2±0,1
1 час	70,5±0,4	4,8±0,2	7,2±0,1	2,8±0,4
1 сутки	80,6±0,3	4,6±0,3	7,4±0,4	3,0±0,2
5 суток	70,0±0,5	5,4±0,5	7,6±0,2	3,4±0,5
10 суток	60,8±0,2	6,1±0,2	7,3±0,3	3,2±0,4

Опыт по изучению раздражающих свойств препарата на слизистые оболочки глаз провели на 6 кроликах.

Раздражающее действие препарата на слизистые оболочки глаз определяли по «глазной пробе». В конъюнктивальный мешок левого глаза 6 кроликам закапывали 1-2 капли препарата, а в конъюнктивальный мешок правого – 1-2 капли воды. За животными вели наблюдение на протяжении 15 суток. Оценку раздражающего действия проводили через 1,2, 3, 4 и 24 часа, 3-7 и 15 суток визуально по изменению кровенаполнения конъюнктивы, наличию лакримации и состоянию роговицы по 10 бальной системе согласно таблице 2.2.14.10.3.

Таблица 2.2.14.10.3 – Оценка раздражающего действия на слизистые оболочки глаз

Интенсивность реакции	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
Отсутствие реакции	0	Отсутствует
Слабая реакция	2	Слабый
Выраженная гиперемия	4	Слабо выраженный
Наличие лакримации	6	Умеренный
Наличие выделений	8	Выраженный
Длительная, ярко выраженная гиперемия, лакримация, отек век	10	Сильно выраженный

Через 1 час после введения препарата у всех подопытных животных наблюдали слезотечение и выраженную гиперемию конъюнктивы с оценкой 4 балла. Через 2, 3 и 4 часа конъюнктива оставалась слабовыраженной в той же степени – 4 балла.

Спустя 24 часа у всех кроликов на слизистой глаз имело место наличие лакримации и отека век (раздражающий эффект – умеренный). На 2 сутки отмечали ярко выраженную гиперемию и лакримацию (раздражающий эффект – умеренный). На 4-е сутки признаки раздражения слизистой глаз постепенно исчезали. На 7 сутки видимых изменений на слизистых оболочках глаз не наблюдали. Таким образом, было установлено, что испытуемый препарат обладает умеренным раздражающим эффектом на слизистые оболочки глаз в течение первых 2 суток.



### 2.2.14.11 Изучение аллергизирующего действия «Эмидонола 10%»

Результаты данного этапа исследования опубликованы в статье «Изучение местно-раздражающих средств и аллергических свойств препарата Эмидонол 10%» [69].

При введении подопытным животным гистамина наблюдалась следующая реакция: возбуждение, частая дефекация, мочеиспускание, учащенное дыхание, судороги и смерть. Критерием оценки служило время от момента введения гистамина до момента бокового положения животных. Время наступления гистаминового шока у подопытных и контрольных животных находилось в близких пределах ( $P \geq 0,05$ ). Не было отмечено укорочения периода наступления гистаминового шока при введении Эмидонола 10% как в терапевтической, так и в три раза увеличенной терапевтической дозах (Таблица 2.2.14.11.1). Препарат в указанных дозах не потенцировал эффекта гистамина и, следовательно, не проявлял аллергизирующих свойств.

Таблица 2.2.14.11.1 – Результаты изучения аллергизирующей активности препарата «Эмидонол 10%» (метод гистаминового шока,  $P > 0,05$ )

Доза, мг/кг по ДВ	Время введения гистамина после «Эмидонола 10%», час	Время наступления гистаминового шока, мин	
		Животные	
		Подопытные M±m	Контрольные M±m
20	3,0	20,3±0,10	20,09±0,30
60	3,0	20,19±0,12	20,10±0,20

У подопытных морских свинок характер протекания гистаминового шока не отличался от такового у контрольных животных.

В своих исследованиях мы применили также тест непрямой реакции дегрануляции тучных клеток крыс (РНДТК).

Опыты по изучению аллергенных свойств по тесту «непрямой реакции дегрануляции тучных клеток» показали, что при подкожном введении препарата в терапевтической и в три раза увеличенной дозах на первые сутки

после введения, процент дегранулированных клеток не превышал десяти (Таблица 2.2.14.11.2).

Таблица 2.2.14.11.2 – Результаты изучения аллергенной активности препарата «Эмидонол 10%» в РНДТК

Доза мг/кг по ДВ	Способ введения	Сроки убоя животных, сутки	Процент дегранулированных клеток	Реакция
20	Подкожно	1	9,6±0,3	(-)
60	Подкожно	1	9,4±0,4	(-)
20	Подкожно	5	4,8±0,2	(-)
60	Подкожно	5	3,6±0,2	(-)
20	Подкожно	10	3,9±0,12	(-)
60	Подкожно	10	3,0±0,10	(-)
20	Подкожно	15	3,7±0,12	(-)
60	Подкожно	15	2,8±0,3	(-)

На 5, 10 и 15 сутки после введения препарата, процент дегранулированных клеток находился в пределах 4,8±0,2 – 2,8±0,30. Таким образом, наибольший процент дегранулированных клеток наблюдался на первые сутки после введения препарата «Эмидонол 10%» в дозах: 0,2 и 0,6 мл/кг, но и в эти сроки по количеству дегранулированных клеток, реакция считается отрицательной.

Таким образом, с использованием двух высокочувствительных тестов для определения алергизирующей активности препарата Эмидонол 10%: «гистаминового шока» и РНДТК, мы установили, что препарат при подкожном пути введения в терапевтической и в три раза увеличенной дозах, не потенцирует влияние гистамина и не вызывает дегрануляции тучных клеток крыс, выходящие за пределы нормы.

Препарат не обладает местно-раздражающими свойствами и не вызывает аллергической реакции у животных в испытанных дозах и будет рекомендован к регистрации.

### **2.2.14.12 Переносимость и субхроническая токсичность препарата «Эмидонол 20%» на норках**

Ввиду очень малой токсичности и отсутствия специфических токсических эффектов у «Эмидонола 10%», его фрагментов и метаболитов в органах и тканях подопытных животных, что было установлено в ходе наших экспериментов, производитель решил разработать данное лекарственное средство в трех концентрациях – 5, 10, 20% раствор, состоящий из стабильного комплекса двух молекул – эмицидина и мельдония. Наши коллеги проводили параллельно с нами доклинические исследования данного препарата в концентрациях 5 и 20%. Ими было установлено, что препарат является малотоксичным, поэтому контроль и нормирование его остаточного количества в животноводческой продукции не имеет значения и нецелесообразен. Метаболиты ДВ эмидонола полностью выводятся из организма млекопитающих в течение суток с мочой. Кумулятивные эффекты для эмидонола, его фрагментов и метаболитов отсутствуют.

Компания ООО «НВЦ Агроветзащита», которая и разработала препарат «Эмидонол 20%» в форме раствора для перорального применения, содержащий в своем составе «Эмидонол<sup>®</sup>» - 200 мг, а также вспомогательные вещества: моноэтаноламин, бензоат натрия, сорбат калия, сорбит и вода очищенная, предложила нам провести исследования по переносимости применения препарата на пушных зверях (норках). С этой целью из 120 голов молодняка норок было сформировано 3 группы (по 20 самцов и самок в каждой группе). Все животные получали типовой общехозяйственный рацион. Первой опытной группе норок индивидуально применяли препарат «Эмидонол 20%» в течение 15 суток из расчета 0,5мл/кг ж.м. (пятикратно увеличенная терапевтическая доза), один раз в день, в течение 3 месяцев. Второй опытной группе индивидуально применяли препарат в дозе 0,1 мл/кг ж.м. в течение 15 суток. Контрольным животным препарат не применяли. Взвешивание норок проводили до и в конце опыта.

Оценку переносимости применения препарата проводили по весовым

показателям, сохранности естественной резистентности, обменным процессам и биохимическим показателям у норок. Результаты исследований представлены в таблице 2.2.14.12.1.

Таблица 2.2.14.12.1 – Влияние препарата «Эмидонол 20%» на весовые показатели молодняка норок в (г)

Время взвешивания	Группа норок		
	Контрольная	Подопытная № 1	Подопытная № 2
При постановке в опыт	940 $\pm$ 10,2	950 $\pm$ 18,52	915 $\pm$ 12,6
Перед убоем	2452 $\pm$ 15,7	2574 $\pm$ 16,8	2628 $\pm$ 19,4

Из таблицы 2.2.14.12.1 видно, что молодняк, получавший препарат к моменту убоя имел большую живую массу, а, следовательно, шкурка была длиннее, а ее стоимость была выше.

Обменные процессы в организме норок изучали по состоянию естественной резистентности и содержанию ферментов (ЛДГ, амилаза, АлАТ, АсАТ).

Уровень бактерицидной активности сыворотки крови составляла 50,4 $\pm$ 1,6% в контроле, в первой подопытной группе – 57,6 $\pm$ 1,2% и 51,2 $\pm$ 0,9% - во второй группе; лизоцимной – 27,4 $\pm$ 0,7% (в контроле), 29,4 $\pm$ 1,2% – в первой и 26,3 $\pm$ 0,4% во второй подопытной группе; фагоцитарная активность составляла 49,4 $\pm$ 0,7% - в контроле; 50,4 $\pm$ 3,2% – в первой и 48,2 $\pm$ 1,7% – во второй группе. Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) крови норок в контрольной группе составляла 9,5 $\pm$ 0,1 мкМ, в 1-й подопытной группе – 11,2 $\pm$ 0,3 мкМ, во второй – 9,6 $\pm$ 0,1 мкМ.

Уровень активности амилазы у норок всех групп составляла 0,96 $\pm$ 0,02 – 0,72 $\pm$ 0,06 мг. АлАТ в контрольной группе была равна 42,1 $\pm$ 1,4 усл. ед., в опытных – 44,8 $\pm$ 1,7 и 46,2 $\pm$ 2,1 усл. ед. АсАТ сыворотки крови норок в контроле составила 65,5 $\pm$ 1,07 усл. ед. и была выше у подопытных животных.

Таким образом, данные по определению состояния естественной резистентности норок показали, что введение в рацион «Эмидонола 20%» способствует полному восстановлению естественных защитных сил

организма норок. Показатели активности ферментов сыворотки крови норок свидетельствуют о благоприятном влиянии препарата на ферментный спектр сыворотки крови и полное восстановление углеводного и белкового обмена в организме норок. Полученные данные были включены в инструкцию к препарату «Эмидонол 20%» (77-3-13.18-4323№ПВР-3-21.13/02952 от 23 ноября 2018 г.

Полученные данные свидетельствуют о том, что применение «Эмидонола 20%» безопасно даже в пятикратно увеличенной терапевтической дозе, препарат положительно влияет на рост и весовые показатели, естественную резистентность и обменные процессы в организме животных. Гибели норок на протяжении опыта не наблюдалось.

Следующим этапом наших исследований стала оценка антимикробной активности препарата «Азициклин». Этот препарат хорошо себя зарекомендовал в других странах, его ДВ эффективно в борьбе с грамположительными и грамотрицательными бактериями, что доказывается в многочисленных исследованиях и подтверждается 20 летним успешным опытом эффективного и безопасного клинического применения. Все перечисленное позволило ДВ – азитромицину занять одно из ведущих мест в современных схемах антимикробной химиотерапии бактериальных инфекций, а выявление ранее неизвестных свойств азитромицина открывают новые возможности его практического использования. Поэтому компания ООО «НВЦ Агроветзащита», решила начать производить данное лекарственное средство для ветеринарного применения у нас в стране. В связи с этим для регистрации нового лекарственного препарата необходимо провести его доклинические испытания.

### 2.2.14.13 Оценка антимикробной активности препарата «Азициклин»

Результаты этого этапа исследования опубликованы в статьях «Клиническое испытание комплексного антибиотика азициклина при кокцидиидозе норок» и «Оценка антимикробной активности препарата азидокс» [111, 113].

Титрование обогащенных культур тест-штаммов показало, что биологическая активность суточных культур (концентрация живых бактериальных клеток) составила от  $2 \times 10^8$  до  $9 \times 10^9$  КОЕ/мл.

Результаты оценки антимикробной активности препарата методом серийных разведений и методом диффузии в агар представлены в таблицах 2.2.14.13.1-2.2.14.13.3.

Таблица 2.2.14.13.1 – Антимикробная активность препарата «Азициклин» при определении методом серийных разведений

Тест-штамм ПБА	Концентрация препарата, мкг/мл						
	0,15	0,3	0,6	1,2	2,5	5,0	50
<i>S. aureus</i>	+	-	-	-	-	-	-
<i>Ps. aeruginosa</i>	+	+	-	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	+	+	+	+	+	+	-
<i>Salmonella abony</i>	+	+	+	+	+	+	-
<i>Bac. subtilis</i>	+	+	-	-	-	-	-

Примечание: \* Знак «+» означает рост культуры в пробирке, «-» отсутствие роста.

Таблица 2.2.14.13.2 – Антимикробная активность препарата «Азициклин» при определении методом диффузии в агар

Тест-штамм ПБА	Концентрация препарата, мкг/мл							Контроль ФР
	0,15	0,3	0,6	1,2	2,5	5,0	10,0	
<i>S. aureus</i>	0	0	0	0	13,5	21,2	30,1	0
<i>Ps. aeruginosa</i>	0	0	0	0	12,7	16,3	24,2	0
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salmonella abony</i>	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Bac. subtilis</i>	0	0	0	11,7	16,5	19,5	22,3	0

Таблица 2.2.14.13.3 – Минимально подавляющая концентрация (МПК) препарата «Азициклин» при определении методами серийных разведений и диффузии в агар

Тест-штамм ПБА	Метод	
	серийных разведений	диффузии в агаре
<i>S. aureus</i>	0,3	2,5
<i>Ps. aeruginosa</i>	0,6	2,5
<i>E. coli</i>	50	>10
<i>Salmonella abony</i>	50	>10
<i>Bac. subtilis</i>	0,6	1,2

Следующим этапом нашей работы было изучение эффективности препарата «Азициклин» при диарее норок.

Под опытом находилось 30 норок в возрасте 45-60 дней. По данным ветбаклаборатории у норок был поставлен диагноз диарея, вызванная *E. coli* на фоне недоброкачественного кормления или кокцидиидоза.

Затем 25 норкам в течение 3-х дней задавали препарат «Азициклин» в дозе 3 г на 100 мл воды и выпаивали каждому животному водный раствор «Азициклина» в дозе 1 мл/кг массы тела. На вторые сутки диарея прекратилась у 15 норок, на 3-5-й дни у остальных животных, получавших препарат. Из 5 норок, не получавших препарат, пало две, а оставшимся трем задавали препарат «Азициклин» в течение 3-5 дней. Удовлетворительное состояние у норок наступило на 8-10 дни после лечения.

В результате проведенного эксперимента мы пришли к следующим выводам: препарат «Азициклин» обладает *in vitro* выраженной антимикробной активностью по отношению к вегетативным (*S. aureus*, *Ps. aeruginosa*) и споровым (*Bac. subtilis*) формам бактерий. МПК препарата составляет для *S. aureus* 0,3 мкг/мл; *Ps. aeruginosa* и *Bac. subtilis* 0,6 мкг/мл; *E. coli* и *Salm. abony* 50 мкг/мл, «Азициклин» в дозе 1 мл/кг массы тела при диарее норок обладает 100% эффективностью.

Таким образом, препарат «Азициклин» высокоэффективен при желудочно-кишечных инфекциях у норок, его действие при комплексном лечении диареи, вызванной кокцидиями.

## ТЕРАПИЯ ПРИ КИШЕЧНЫХ ПАРАЗИТОЗАХ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ

### 2.2.15.1 Изучение терапевтической эффективности кокцидиостатиков при эймериидозах пушных зверей

Применение кокцидиостатиков в первую очередь направлено на борьбу с эймериидозами. Согласно исследованиям других авторов, которые были изучены в ходе подготовки данной работы, известно, что эффективность эймериостатиков различна и зависит от ряда факторов: вида паразита, ИИ, их репродуктивной способности, дозы и кратности применения препарата и т.д. В ветеринарной практике необходимо применять наиболее эффективные лекарственные препараты с максимально широким спектром действия, чтобы не развивались более устойчивые поколения кокцидий и не вырабатывалось привыкание паразитических организмов, поэтому современные кокцидиостатики должны полностью подавлять развитие различных генераций паразита или значительно замедлять их развитие в организме пушных зверей. В связи с этим, в лечебно-профилактических целях рекомендуется применять препараты, относящиеся к различным фармакологическим группам химических соединений, т.к. применение одного и того же препарата длительное время может приводить к образованию устойчивости у простейших. Однако надо иметь ввиду, что некоторые препараты могут оказывать неблагоприятные побочные эффекты, такие как плохая поедаемость корма зверями или полный отказ от него, повышенная жажда, саливация, рвота или диарея, поэтому при испытании новых лекарственных препаратов обязательно надо регистрировать все случаи таких проявлений. Помимо очевидных факторов, кокцидиостатики могут отрицательно влиять на формирование иммунитета к эймериидозам, оказывать негативное влияние на микробиоту кишечника животных, поэтому препараты, которые оказывают влияние на иммунитет или микрофлору



кишечника, следует чередовать с другими препаратами или иммуномодуляторами, антиоксидантами, пробиотическими препаратами.

Разработка и внедрение в широкую практику эффективных мер борьбы с эймериозами является актуальной задачей ветеринарной науки и звероводства. В поисках высокоэффективных лекарственных средств при эймериозах пушных зверей нами было изучено действие нового отечественного препарата – «Стоп-кокцид» и сравнение его эффективности с другими ранее известными кокцидиостатиками, уже себя зарекомендовавшими как высокоэффективные.

#### **2.2.15.1.1 Лечебная эффективность препарата «Стоп-кокцид» на норках**

Результаты данного этапа исследования опубликованы в статьях «Изучение терапевтической эффективности «Стоп-кокцида» у норок, лисиц и песцов» и «Изучение эффективности кокцидиостатика стоп-кокоцид при эймериозе и изоспорозе норок» [107, 108].

Эффективность действия препарата «Стоп-кокцид» изучали на спонтанно зараженных норках в одном из зверохозяйств Ленинградской области.

«Стоп-кокцид» – отечественный кокцидиостатик широкого спектра действия, разработанный ООО НПО «Апи-Сан» г. Москва. Это лекарственное средство обладает выраженной противоэймериозной активностью в отношении: *Eimeria bovis*, *E. zuerni*, *E. scabra*, *Isospora suis*, *E. tennella* и других видов кокцидий. Толтразурил – это ДВ, которое входит в состав данного лекарственного препарата, является производным триазитриона, обладающего способностью блокировать дыхательные ферменты, а также повреждает митохондрии, оказывает влияние на процессы деления зародышевого ядра кокцидий и нарушает, тем самым, процесс образования макрогаметоцитов.

В ходе проведенных нами доклинических испытаний данного лекарственного средства было установлено, что «Стоп-кокцид» после

перорального введения медленно всасывается в ЖКТ и оказывает противоккокцидийное действие на слизистой и подслизистой оболочке тонкого кишечника, в организме метаболизируется путем окисления с образованием производных сульфоксида и сульфона. Выводится толтразурил, как в неизменном виде, так и в форме метаболитов вместе с калом и мочой. Будущий препарат был рекомендован для проведения клинических испытаний на различных видах животных, нами он был испытан на пушных зверях – норках (*Neovison vison*), песцах (*Vulpes lagopus*), лисицах (*Vulpes vulpes*).

При копроовоскопическом исследовании фекальных масс от 220 норок (из них 200 самок, 20 самцов) в возрасте 1-2 года, спонтанно зараженных кокцидиозами, у 82,73% животных были обнаружены ооцисты кокцидий и изоспор. У норок были выявлены 2 вида эймерий – *E. vison*, *E. furonis* и один вид изоспоры – *I. laidlawi*. Интенсивность зараженности в одной капле исследуемой пробы фекалий от подопытных животных эймериями и изоспорами колебалось от 2-40 спорулированных ооцист.

Для проведения клинических испытаний препарата, норок разделили на две группы. В первую группу вошло 140 животных, а во вторую – 22. Вес животных варьировался и в среднем составил  $2,6 \pm 0,230$  кг. В первой группе обработку животных проводили препаратом «Стоп-кокцид», который давали с небольшим количеством корма натошак, тщательно перемешав из расчета 0,4 мл на 1 кг массы тела животного однократно. Контрольная группа при этом содержится в обычных условиях и препарат не получает. Повторные пробы фекалий отбирались на 7-й, 14-й и 21-й день после дачи препарата, что связано с циклом развития некоторых видов кокцидий у пушных зверей.

В результате в первой группе эффективность препарата Стоп-кокцид в дозе 0,4 мл на 1 кг массы тела животного однократно составила 95,71% по отношению к различным видам ооцист эймерий и изоспор. Животные вначале не охотно потребляли мешанку, некоторые вообще отказывались от корма, небольшая часть корма была съедена синантропными животными (птицами), но спустя около 1,5 часов мешанку съело 100% животных, находящихся в

опыте. У 134 животных первой группы, при копроовоскопии на 7-й, 14-й и 21-й день опыта ооцист кокцидий обнаружено не было. Шесть норок из 140 животных на 7-й день эксперимента продолжали выделять ооцисты, ИИ эймериид составляла –  $10 \pm 2$ . В контрольной группе у всех норок выявили простейших. После завершения первой части испытаний контрольная группа и животные, продолжающие выделение ооцист из первой группы, подверглись также обработке препаратом «Стоп-кокцид» в дозе 0,4 мл на 1 кг массы тела животного однократно. Эффективность препарата составила 90,90% на 3-й день после обработки животных лишь у двух норок были обнаружены ооцисты кокцидий, у всех остальных животных из контрольной группы на 7-й, 14-й и 21-й день ооцист эймерий и изоспор не обнаружено.

Таким образом, в результате исследований установили, что препарат «Стоп-кокцид» имеет высокую антикокцидийную эффективность, против различных видов эймерий и изоспор, выявленных в данном хозяйстве у норок. Эффективность данного препарата в дозе 0,4 мл/кг (20 мг/кг по ДВ), составила в первой группе 95,71%, во второй составила 90,90%.

Мы рекомендуем препарат «Стоп-кокцид» для лечения кокцидиидозов норок в промышленном звероводстве в дозе 0,4 мл/кг (20 мг/кг по ДВ) массы тела животного однократно с кормом натошак, эти данные вошли в инструкцию к данному препарату – 77-3-8.17-4215№ПВР-3.21.12/02859 от 03.08.2018.

#### **2.2.15.1.2 Лечебная эффективность препарата «Стоп-кокцид» на песцах**

Следующим этапом наших исследований стало испытание препарата «Стоп-кокцид» на спонтанно заболевших эймериидозами песцах, результаты которого опубликованы в статье «Изучение терапевтической эффективности «Стоп-кокцида» у норок, лисиц и песцов» [107].

При копроовоскопическом исследовании фекальных масс от 140 песцов (из них 120 самок, 20 самцов) в возрасте 1,5-2 лет, у всех животных были обнаружены ооцисты изоспор. У песцов были выявлены 3 вида изоспор – *I.*

*buriatrica*, *I. vulpina*, *I. canivelocis*. Интенсивность инвазии в одной капле исследуемой пробы фекалий от подопытных животных эймериями и изоспорами колебалась от 10 до 40 ооцист.

Для проведения эксперимента по изучению эффективности нового препарата на песцах, животных разделили на две группы. В первую группу вошло 80 животных, а во вторую 60. Группы были смешанные, в обе входили и самцы, и самки. В первой группе обработку животных проводили препаратом «Стоп-кокцид», который давали с кормом натошак, тщательно перемешав из расчета 0,4 мл на 1 кг массы тела животного однократно. В течение трех дней устанавливается наблюдение за животными ветеринарным врачом хозяйства для обнаружения и при необходимости локализации побочных эффектов от приема препарата. Контрольная группа при этом содержится в обычных условиях и препарат не получает. Повторные пробы фекалий отбирались на 7, 14 и 21 день после дачи препарата.

В результате, в первой группе эффективность препарата «Стоп-кокцид» в дозе 0,4 мл на 1 кг массы тела животного однократно составила 86,25% по отношению к различным видам ооцист. Из побочных явлений отмечено следующее: спустя 40-50 минут после дачи мешанки с препаратом, у 11 животных из 80 наблюдалась рвота и повышенная саливация, у 69 животных первой группы, при копроовоскопии на 7-й, 14-й и 21-й день опыта ооцист кокцидий обнаружено не было. В контрольной группе у всех животных выявили простейших. После завершения первой части испытаний, контрольная группа подверглась также обработке препаратом «Стоп-кокцид», но в дозе 0,2 мл на 1 кг массы тела животного, однократно. Эффективность препарата на 3-й день составила 95%. В результате исследований установили, что препарат «Стоп-кокцид» имеет высокую антикокцидийную эффективность против различных видов эймерий и изоспор, выявленных в данном хозяйстве у песцов. Эффективность данного препарата в дозе 0,4 мл/кг (20 мг/кг по ДВ), составила 86,25%, и возможно, вызвал рвоту у некоторых животных, участвовавших в опыте. Поэтому применять этот протозойный

препарат в дозе 0,4 мл/кг рекомендуется с осторожностью, или давать дробно по 0,2 мл/кг двукратно с интервалом сутки. Эффективность препарата «Стоп-кокцид» в дозе 0,2 мл/кг (10 мг/кг по ДВ), составила 95%.

Препарат «Стоп-кокцид» был рекомендован для лечения кокцидиидозов песцов в промышленном звероводстве в дозе 0,2 мл/кг (10 мг/кг по ДВ) массы тела животного однократно, информация об этом была включена в инструкцию к данному препарату – 77-3-8.17-4215№ПВР-3.21.12/02859 от 03.08.2018.

### **2.2.15.1.3 Лечебная эффективность препарата «Стоп-кокцид» на лисицах**

Результаты этого этапа исследования опубликованы в статье «Изучение терапевтической эффективности «Стоп-кокцида» у норок, лисиц и песцов» [107].

Помимо норок и песцов, в качестве объектов исследования терапевтической эффективности препарата Стоп-кокцид мы использовали спонтанно зараженных кокцидиидозами черно-бурых лисиц в одном из зверохозяйств Ленинградской области.

Для этого сначала нам надо было найти среди всего поголовья животных – это более 2400 животных тех, у кого были кокцидии. Диагноз изоспороз лисиц был поставлен на основании эпизоотологических данных, клинических наблюдений, патологоанатомических и лабораторных исследований.

При копроовоскопическом исследовании фекальных масс от 120 лисиц (из них 109 самок, 11 самцов) разных возрастов у 60,83% животных были обнаружены ооцисты. У лисиц были выявлены 3 вида изоспор – *I. vulpina*, *I. buriatica*, *I. canivelocis*. Интенсивность зараженности в одной капле исследуемой пробы фекалий от подопытных животных эймериями и изоспорами колебалась от 5-20 ооцист.

Лисиц разделили на две группы. В первую группу вошло 50 животных, а во вторую 23. Учитывая предыдущий опыт изучения терапевтической эффективности препарата «Стоп-кокцид» на песцах, мы решили не

испытывать дозу 0,4 мл на 1 кг ж.м.т. (40 мг/кг по ДВ) на лисицах. Поэтому в первой группе обработку животных проводили препаратом «Стоп-кокцид», сразу из расчета 0,2 мл на 1 кг массы тела животного однократно, препарат давали с кормом натошак, тщательно перемешав. В течение трех дней устанавливается наблюдение за животными ветеринарным врачом, для обнаружения и при необходимости локализации побочных эффектов от приема препарата. Контрольная группа при этом содержится в обычных условиях с соблюдением зоогигиенических норм и препарат не получала. Повторные пробы фекалий отбираются на 7, 14 и 21 день после дачи препарата.

Нами были получены следующие данные: в первой группе эффективность препарата «Стоп-кокцид» в дозе 0,2 мл на 1 кг массы тела животного однократно, составила 94,52% по отношению к различным видам ооцист изоспор. Из побочных явлений отмечено, что животные отказывались от воды длительное время, хотя температура окружающей среды была довольно высока, и это могло привести к обезвоживанию и опасности для жизни животных. Однако примерно через 5 часов животные снова начали употреблять воду из поилок. У 69 животных первой группы при копроовоскопии на 7-й, 14-й и 21-й день опыта ооцист кокцидий обнаружено не было. В контрольной группе у всех животных выявили простейших. В результате исследований установили, что препарат Стоп-кокцид имеет высокую антикокцидийную эффективность против различных видов эймерий и изоспор, выявленных в данном хозяйстве у лисиц. Эффективность данного препарата в дозе 0,2 мл/кг (10 мг/кг по ДВ), составила 94,52%.

Кокцидиостатик «Стоп-кокцид» был рекомендован для лечения эймериидозов лисиц в промышленном звероводстве в дозе 0,2 мл/кг массы тела животного (10 мг/кг по ДВ), однократно. Эти данные вошли в инструкцию к препарату «Стоп-кокцид» – 77-3-8.17-4215№ПВР-3.21.12/02859 от 03.08.2018.

### 2.2.15.1.4 Лечебная эффективность препарата «Эймерм 5%» на пушных зверях

Изучение эффективности препарата «Эймерм 5%» проводили в условиях двух зверохозяйств Ленинградской области. До начала проведения эксперимента по изучению лечебной эффективности в хозяйстве перед нами стояла задача провести обследование животных – норок, песцов и лисиц на зараженность ооцистами кокцидий, помимо этого мы определяли экстенс- и интенсинвазированность животных и видовую специфичность кокцидий. От каждого животного отбирали пробы по 20 г фекалий, герметично упаковывали и этикетировали. До исследования в лаборатории по изучению паразитозов пробы фекалий хранили при температуре 2-4°C.

Для проведения исследования были отобраны пробы фекальных масс от 168 норок, 143 лисиц и 74 песцов разных возрастов, пород и окрасов.

По результатам копроскопических исследований пушных зверей, они были разделены на подопытную и контрольную группы, в обе вошли зараженные кокцидиями зверьки. Животным подопытной группы вводили препарат перорально однократно натошак, перемешав с небольшим количеством влажного корма (мешанкой) в дозах, приведенных в таблице 2.2.15.1.4.1, а контрольной группе препарат не задавался.

Таблица 2.2.15.1.4.1 – Количество животных, участвовавших в исследовании

Вид животного	Количество животных в группе, гол			
	Подопытная (1 группа)	Доза и кратность препарата «Эймерм 5%»	Контрольная (2 группа)	Доза и кратность препарата «Эймерм 5%»
Норки (n=120)	80	0,4 мл на 1 кг, 1 раз в день 3 дня подряд	40	-
Песцы (n=74)	60	0,2 мл на 1 кг, 1 раз в день 3 дня подряд	14	-
Лисицы (n=68)	40	0,2 мл на 1 кг, 1 раз в день 3 дня подряд	28	-

В течение 3 суток за животными вели наблюдение, отмечая нежелательные реакции после применения препарата. Эффективность препарата учитывали по результатам лабораторных (копроскопических) исследований подопытной и контрольной групп животных до и через 3, 7 и 14 дней после обработки. Расчет эффективности препарата проводили по типу «контрольный тест». Подопытные и контрольные животные содержались в одинаковых условиях при соблюдении зоогигиенических норм и получали одинаковый рацион.

В результате после проведенных копроскопических исследований экстенсинвазированность эймериями и изоспорами у норок составила 71,42%. У норок выявлены 2 вида эймерий – *E. vison* и *E. furonis*, а также изоспора *I. laidlawi*. Интенсинвазированность эймериями составила в среднем 2-40 спорулированных ооцист. Препарат животным применяли в дозе 0,4 мл на 1 кг массы тела животного три дня подряд. За животными вели наблюдение, в ходе которого не было установлено отклонений в поведении и общем состоянии животных, а также изменений аппетита. Расчетная экстенсэффективность (ЭЭ) на 3-й день составила 98,75%. Результаты копроскопических исследований, проведенных на 7 и 14 день – 100%.

При проведении в хозяйстве копроскопических исследований у песцов экстенсинвазированность эймериидозами песцов составила 100%, определены виды: *I. vulpina*, *I. buriatica*, *I. canovelocis*. Интенсинвазированность эймериями составила в среднем 10-40 спорулированных ооцист. Препарат животным применяли однократно в дозе 0,2 мл на 1 кг массы тела животного. За животными вели наблюдение, в ходе которого у 4-х животных отмечали однократную рвоту. Расчетная экстенсэффективность (ЭЭ) на 3-й день составила 90%, при обследовании фекалий животных на 7-й и 14-й день ооцисты ни в одной пробе обнаружены не были.

Расчетная ЭИ у лисиц составила 47,55%. Обнаружены 3 вида изоспор – *I. vulpina*, *I. buriatica*, *I. canovelocis*. Интенсинвазированность эймериями составила в среднем 5-20 спорулированных ооцист. Препарат животным



применяли однократно в дозе 0,2 мл на 1 кг массы тела животного. За животными вели наблюдение, в ходе которого не было установлено отклонений в поведении и общем состоянии животных, а также изменений аппетита. ЭЭ составила 94,52%. Результаты изучения эффективности представлены в таблице 2.2.15.1.4.2.

Таблица 2.2.15.1.4.2 – Экстенсивность эффективности кокцидиостатика «Эйметерм 5%» у различных видов животных

Вид животного	ЭИ, %	Доза препарата, мл	ЭЭ, % на 3-й день исследования	ЭЭ, % на 7-й и 14-й день исследования
Норки (n=120)	71,42	0,4	98,75	100
Песцы (n=74)	100	0,2	90	100
Лисицы (n=68)	47,55	0,2	94,52	100

В соответствии с полученными нами данными, препарат «Эйметерм 5%», содержащий 5% толтразурила, рекомендован в качестве эффективного лечебно-профилактического средства для борьбы с кокцидиозами пушных зверей в промышленном звероводстве, а информация об эффективности его против эймериидозов норок, песцов и лисиц может быть добавлена в инструкцию к препарату.

### 2.2.15.1.5 Сравнительная эффективность различных кокцидиостатиков при эймериидозах норок

Результаты данного этапа исследования опубликованы в статье «Сравнительная эффективность разных кокцидиостатиков при эймериидозах норок» [118].

Испытание препаратов «Стоп-кокцид», «Эймертерм 5%» в виде суспензии и «Байкокс 5%» было проведено на 72 норках, спонтанно зараженных *E. vison* и *I. laidlawi*. Причем в эксперименте участвовали только животные, у которых наблюдалась микстинвазия, одновременное поражение сразу двумя этими паразитами. Животные были поделены на 4 группы, по 18 норок в каждой. Три группы были подопытными, четвертая группа служила контролем. В своем составе все испытуемые препараты в 1 мл лекарственного средства в качестве действующего вещества содержат 50 мг толтразурила и вспомогательные компоненты. Препараты подопытным животным применяли однократно в дозе 0,2 мл на 1 кг массы тела животного. Контрольной группе животных препараты не задавались.

По результатам повторных копроовоскопических исследований, на 10-й день эффективность препарата «Эймертерм 5%» в виде суспензии в данном опыте составила – 88,8%, у двух норок были обнаружены единичные ооцисты, причем они уже имели изменения в своей структуре. Препараты «Байкокс 5%» и «Стоп-кокцид» – по 83,3%, у трёх из 18 животных в каждой из подопытных групп, обработанных этими кокцидиостатиками, были обнаружены ооцисты. В контроле все животные остались больными эймериидозами. После завершения эксперимента и контрольные животные и те, кто в ходе эксперимента остались больны, были обработаны противоккокцидийным препаратом.

Все исследуемые препараты доказали свою эффективность по отношению к кокцидиидозам норок в дозе 0,2 мл на кг массы тела животного и могут быть использованы в промышленном звероводстве с целью лечения и профилактики эймериидозов норок.

### **2.2.15.1.6 Экономическая эффективность применения кокцидиостатиков при эймериидозах пушных зверей**

Результаты текущего этапа исследования опубликованы в статьях «Сравнение экономической эффективности кокцидиостатиков, применяемых для лечения норок» и «Evaluation of the effectiveness of drugs for mink eimeriosis» [116, 317].

В рыночной экономике цена формируется в результате функционального взаимодействия спроса и предложения. Для стоимостной оценки результатов хозяйственной деятельности используются различные виды цен, которые продиктованы особенностями продаваемого товара. При оценке такого специфического товара как пушнина действуют принципы формирования аукционной цены. Это цена публичной продажи по максимально предложенному уровню на предварительно осмотренную покупателем партию (лот) товаров. Аукционная цена может существенно отличаться от рыночной или цены производителя, так как отражает уникальные свойства товара. Трудно прогнозируемый характер цен на пушном аукционе продиктован необходимостью учета огромного числа факторов в условиях взаимодействия спроса и предложения.

Для построения экономической модели, отражающей основные факторы лечебно-профилактических мероприятий, необходимо учитывать дополнительные издержки, связанные с этим. Во-первых, с реализацией комплекса мероприятий, направленных на оздоровление животных и поддержание их жизнедеятельности. Во-вторых, учесть негативные последствия несвоевременного и/или недостаточного оказания необходимой ветеринарной помощи для получения качественной товарной продукции. В первом случае – это дополнительные издержки на приобретение лекарственных средств и проведение лечебно-профилактических мероприятий. Во втором – это ущерб, который получит зверохозяйство в случае гибели животных и/или получения низкокачественной продукции, не

отвечающей полностью или частично требованиям нормативных документов, предъявляемым к пушной продукции высокого качества.

Исследования лекарственных препаратов проводились в звероводческих хозяйствах, расположенных в Северо-Западном регионе РФ.

Для подтверждения диагнозов были использованы эпизоотологические данные, клиническая картина, а также результаты патологоанатомических вскрытий и лабораторных исследований.

Первую серию опытов провели на 220 норках, из них 140 животных были заражены *E. vison* и *I. laidlawi*, ЭИ составила 63,62%, экстинвазированность на начало эксперимента составила 21,81 и 41,81%, соответственно. В качестве испытываемого препарата использовали кокцидиостатик «Стоп-кокцид» (ООО НПО «Апи-Сан»), действующим веществом которого является толтразурил. Лекарственное средство давали с небольшим количеством корма после голодной диеты, тщательно перемешав в дозе 0,4 мл на 1 кг массы тела животного (из расчета 20 мг/кг по ДВ), двукратно.

Вторая серия опытов по испытанию препарата «Эймерм суспензия 5%» (ООО НВЦ «Агроветзащита»), действующее вещество толтразурил, была проведена на 135 животных, среди них 105 норок оказались зараженными *I. laidlawi* и *E. vison*, ЭИ составила 77,77%, экстинвазированность – 53,33 и 24,44%, соответственно. Препарат задавался двукратно, в дозе 0,4 мл на 1 кг массы тела животного из расчета 20 мг/кг по ДВ.

Третья серия опытов состояла в изучении эффективности препарата «Метронидазол» (ООО «НПК «Асконт»), действующем веществом которого является метронидазол, который задавался в дозе 20 мг/кг с кормом два раза в день два дня подряд. У подопытных животных были обнаружены ооцисты *I. laidlawi* и *E. vison*, ЭИ составила 53,84%, экстинвазированность на начало эксперимента составляла 26,15 и 27,69%, соответственно. Препарат вводили животным с кормом два раза в день, два дня подряд в дозе 20 мг/кг.

В четвертой серии опытов участвовало 65 норок, из них 35 оказались заражены, ЭИ 53,84%, экстинвазированность была у *I. laidlawi* 24,62%, а у *E. vison* – 29,23%. Животным задавали препарат «Кокцисан» (АО КРКА), действующим веществом является салиномицин натрия 12%, в дозе 30 мг/кг семь дней подряд вместе с кормом препарат задавался вместе с мешанкой из расчета 500 г препарата на тонну корма.

В пятой серии опытов у норок, зараженных эймериидозами, ЭИ составляла: *I. laidlawi* – 32,3%, а у *E. vison* – 48,57%. Животным вводили вместе с кормом препарат «Байкокс 5 %» (АО Bayer), действующее вещество толтразурил, в дозе 0,4 мл на 1 кг массы тела животного (из расчёта 20 мг/кг по ДВ).

Учет эффективности препаратов проводили по данным копроскопических исследований методами Фюллеборна и Дарлинга через 10 и 30 дней после лечения.

В результате были получены следующие данные. Наибольшую экстенсивность (ЭЭ) показали два препарата – «Стоп-кокцид» и «Эймертерм суспензия 5%». Так, при изоспорозе после обработки препаратом «Стоп-кокцид» на 10-й день этот показатель составил 96,42%, а при эймериозе – 100%, «Эймертерм суспензия 5%» – 98,09 и 100%, соответственно.

«Метронидазол» оказался наименее эффективным из испытуемых препаратов: ЭЭ составила при изоспорозе 71,14%, при эймериозе – 77,14%.

У животных из четвертой серии опытов, на которых испытывали «Салиномицин 12%», данный препарат показал ЭЭ против изоспороза у норок – 85,71%, а против эймериоза – 80,0%.

У животных из пятой серии опытов, которых обработали препаратом «Байкокс 5 %» ЭЭ составила при изоспорозе – 88,57%, а при эймериозе – 97,14%.

Для подсчета экономической эффективности достаточно произвести сравнение затрат на ветеринарные мероприятия.

Для расчета стоимости дозы одной обработки на 1 кг живой массы животного использовали формулу:

$$C = S \times D \div V,$$

где  $C$  – стоимость одной дозы препарата на 1 кг веса;

$S$  – стоимость флакона препарата;

$D$  – доза препарата на 1 кг живой массы;

$V$  – объем препарата во флаконе.

Стоимость флакона 250 мл «Стоп-кокцид» – 1596Р, стоимость флакона 250 мл «Эймерм суспензия 5%» – 1560 Р, стоимость флакона 250 мл «Байкокс 5%» – 2496 Р, стоимость «Метронидазол» таб., 250 мг № 1000 – 503 Р, стоимость «Кокцисан 12%» на момент исследования – 8500 Р за 25 кг.

Стоимость одной дозы препарата «Стоп-кокцид» – 2,55 Р, препарата «Эймерм суспензия 5%» – 2,49 Р, препарата «Байкокс 5%» – 3,99 Р, препарата «Метронидазол» – 0,625 Р, препарата «Кокцисан» – 0,048 Р. Два последних препарата показали недостаточно высокую терапевтическую эффективность, помимо этого, применение «Кокцисан» (кормовой кокцидиостатик) требует курсового приема, что в условиях зверохозяйств не всегда удобно. В связи с этим дальнейший расчет экономической эффективности проводили на трех препаратах, имеющих наибольшую ЭЭ.

Расчет дополнительных издержек, связанных с проведением лечебно-профилактических мероприятий, был бы не полным без учета других факторов, таких как затраты труда и снижение качества продукции.

Общая стоимость всего курса лечения ( $C_{к.л.}$ ) с учетом дополнительных затрат труда ( $c_{тр}$ ) и времени, рассчитывается по следующей формуле:

$$C_{к.л.} = cN + c_{тр} + c_{пр}$$

Все используемые средства задавались животным вместе с кормом или водой, что требует минимальных затрат труда, связанных в основном с контролем их дозировки, таким образом специалист тратит примерно от 0,5 до 1 часа рабочего времени. Фактически, с раздачей корма на 1 тыс. животных,

затраты труда на 1 животное крайне малы ( $c_{\text{тр.}} \approx 0$ ), в связи с этим, данный показатель может не учитываться в дальнейшем расчете.

Более сложной задачей является оценка возможного ущерба от заражения животных эймериидозами и, как следствие, изменения количественно-качественных характеристик пушнины. Данный показатель включает как объективные, так и субъективные оценки, только некоторые из них могут быть достаточно точно определены, например, по весу, размеру и/или площади шкурок. Так, в соответствии с ГОСТ 55587-2013 у норок выделяют пять размерных категорий – ОКА (73-84,9 см), ОКБ (68-72,9 см), крупные (57-67,9 см), средние (50-56,9 см), мелкие (41-49,9 см) [48].

Таким образом, зачет по качеству шкурок норки клеточного разведения включает дифференцированную оценку в отдельности для самок или самцов, включая размер, цветовой тип, качество волосяного покрова, сорт и группу дефектности. По отчетным данным аукциона «*Copenhagen Fur*» в марте и мае 2019 г. средняя цена за шкурки норок стандартного темно-коричневого цветового типа составила для самок – 23,1\$ или 1538,46 Р, самцов – 45,55\$ или 3033,63 Р.

Проведенные нами ранее исследования (раздел 2.2.3.1 «Изменение товарных свойств волосяного покрова шкурок норок клеточного разведения в зависимости от интенсивности инвазии эймериидозами») показывают, что чем выше ИИ, тем больше недостатков и ниже показатели основных товарных свойств волосяного покрова норок, что, безусловно, влияет на качество и ценность пушного сырья.

В частности, цена шкурки самцов норки второго размера, первого сорта, первой группы дефектов, имеет зачет по качеству близкий к 100%. Это желаемый результат деятельности зверохозяйства. Поэтому для оценки эффективности принимаемых мер по лечению норок при эймериидозах можно использовать цену аукциона шкурки норок такого качества. С учетом этого принимаем среднюю цену шкурки для самцов с легкой ИИ – 3564,65 Р, для практически здоровых самок – 1538,46 Р. Средняя цена единицы шкурки

норок (при средней и высокой ИИ) более низкого качества, составляет для самок – 803,07 Р, самцов – 1850,51 Р.

Результаты зачета качества шкурок и их цены шкурок клинически здоровых животных (1-я группа) и в разной степени больных эймериидозами самцов и самок норок (2, 3 и 4-я группы) клеточного разведения приведены в таблице 2.2.15.1.6.1.

Таблица 2.2.15.1.6.1 – Зачет по качеству и цене шкурок самцов и самок норок клеточного разведения

Группа	Пол	Размер*	Подразмер*	Сорт*	Группа дефектности*	Качество, %	Цена шкурки, руб.		
							мин.	сред.	макс.
1-ая группа	♂	ОКА	0000	1	1	130,0	-	-	3943,70
		ОКА	000	1	1	125,0	3792,03	3893,16	-
	♀	ОКБ	1	1	1	105,0	-	-	1615,38
		крупный	2	1	1	100,0	1538,46	1576,91	-
2-ая группа	♂	ОКА	00	1	1	120,0	-	-	3640,36
		ОКА	0	1	1	115,0	3488,67	3564,65	-
	♀	крупный	3	1	1	95,0	-	-	1461,53
		крупный	4	1	1	90,0	1384,61	1448,71	-
3-я группа	♂	ОКБ	1+	2	2	79,2	-	-	2402,63
		ОКБ	1	2	3	66,0	2002,20	2269,6	-
	♀	крупный	5	2	2	61,2	-	-	941,53
		крупный	6	2	2	57,6	886,15	1052,3	-
4-ая группа	♂	крупный	2	2	3	63,0	-	-	1911,19
		крупный	3	2	3	60,0	1820,18	1850,51	-
	♀	крупный	6	2	3	54,0	-	-	830,76
		средний	7	2	3	50,4	775,38	803,07	-

Примечание: \*согласно ГОСТ 55587-2013



Выполненное исследование показало, что улучшение качества меховой продукции в норководческих зверохозяйствах возможно за счет своевременной диагностики эймериидозов и проведения лечения животных эффективными и современными препаратами. Следует отметить, что оценка экономического эффекта применения кокцидиостатиков при эймериидозах пушных зверей может быть дифференцирована по степени достижения конечного результата, перехода из одной более низкой категории, в другую категорию более высокого качества и, следовательно, другой цены.

Ожидаемый экономический эффект от повышения количественно-качественных характеристик шкурок норок необходимо определять с учетом терапевтической эффективности, применяемых лекарственных средств по формуле:

$$\mathcal{E} = k \cdot V_p \cdot (C_k - C_n),$$

где  $k$  - коэффициент, учитывающий терапевтическую эффективность препарата, удельный вес животных, которые выздоровели после его применения;  $V_p$  - количество зараженных (больных) норок, у которых после лечения улучшились количественно-качественные характеристики;  $C_k$  - средняя цена единицы шкурки норок с качеством 100%,  $C_n$  - средняя цена единицы шкурки норок пониженного качества, руб.

Для примера рассчитаем возможный максимальный удельный экономический эффект использования препарата «Стоп-кокцид» с минимальной терапевтической эффективностью 96% при средней цене шкурок здоровых самцов норок  $C_k=3564,65$  руб., а пониженного качества -  $C_n=1850,51$ руб:

$$\mathcal{E}=0,96 \cdot (3564,65 - 1850,51) = 1645,57 \text{ руб. на 1 животное.}$$

Аналогично эффект для самок составит:

$$\mathcal{E}=0,96 \cdot (1538,46 - 803,07) = 705,97 \text{ руб. на 1 животное.}$$

Для удобства оценки эффективности применения различных лекарственных средств необходимо рассчитать возможную отдачу на 1 руб. затрат, которые вкладываются в мероприятия по оздоровлению животных. В

частности, при использовании препарата «Стоп-кокцид» в дозе 0,4 мл/кг при двух кратной обработке, затраты на курс лечения составят  $C=2 \times 2,55=5,1$  Р (на одно животное). Следовательно, максимально возможная отдача или экономический эффект на 1 рубль затрат, составит для самцов 322,66 Р, для самок – 138,43 Р (Таблица 2.2.15.1.6.2).

Таблица 2.2.15.1.6.2 – Сравнение экономической эффективности применения кокцидиостатиков при эймериидозах пушных зверей

Показатели	«Стоп-кокцид»	«Эймитерм-суспензия» 5%	«Байкокс» 5%	
Стоимость препарата, руб.	1596	1560	2496	
Доза препарата для 1 обработки, мл (мг)/кг	0,4	0,4	0,4	
Стоимость препарата для 1 обработки, руб.	2,55	2,49	3,99	
Кратность обработок, ед.	2	2	1	
Терапевтическая эффективность препарата, %	96-100	98-100	89-97	
Расход препарата на курс лечения, мл (мг)	0,8	0,8	0,4	
Стоимость курса лечения 1 животного, руб.	5,1	4,98	3,99	
Предотвращённый ущерб на 1 животное, руб.	♂	1714,14		
	♀	735,39		
Экономический эффект на 1 животное, руб.	♂	1645,57	1679,86	1525,58
	♀	705,97	720,68	654,5
Удельный экономический эффект на 1 рубль затрат	♂	322,66	337,32	382,35
	♀	138,43	144,71	164,03

**Выводы.** Установлено, что использование кокцидиостатиков при эймериидозах пушных зверей наибольшую терапевтическую эффективность, показали два препарата – «Стоп-кокцид» и «Эймитерм суспензия 5%». Так, при изоспорозе после обработки препаратом «Стоп-кокцид» на 10-й день этот показатель составил 96,42%, а при эймериозе – 100%, «Эймитерм суспензия 5%» – 98,09 и 100%, соответственно. Стоимость обработки одного животного этими препаратами составит – 2,55 и 2,49Р, препарат задавался двукратно,

поэтому стоимость обработки одного животного на курс – 5,1 и 4,98 Р, соответственно, при этом удельный экономический эффект составляет для самцов 322,66 и 337,32 руб., для самок 138,43 и 144,71 руб. на 1 рубль затрат соответственно.

«Метронидазол» оказался наименее эффективным из испытываемых препаратов: ЭЭ составила при изоспорозе 71,14%, при эймериозе – 77,14%, тем не менее обработка им одна из самых доступных. Для обработки одной головы потребуется 0,625 Р, но обработку животных приходится проводить два раза в день два дня подряд, таким образом обработка одного животного составит 2,5 Р.

Самым доступным из испытанных нами кокцидиостатиков оказался препарат «Кокцисан» (КРКА), стоимость обработки одного животного составила 0,048 Р, препарат задается семь дней подряд, поэтому на обработку одного животного курсом будет затрачено 0,34 Р. ЭЭ у данного препарата составила против изоспороза у норок – 85,71%, а против эймериоза – 80,0%, что может способствовать развитию устойчивости у паразитов.

Мы рекомендуем в качестве профилактики эймериидозов норок в звероводческих хозяйствах использовать достаточно эффективный и недорогой кормовой кокцидиостатик «Кокцисан» (КРКА), его следует применять в зверохозяйствах регулярно курсами не менее 4-х раз в год. Однако в качестве лечения следует применять более эффективные, но и более дорогостоящие препараты «Стоп-кокцид» и «Эймертерм суспензия 5%», оба этих препарата против эймериид могут быть рекомендованы для промышленного звероводства.

Для получения пушнины с максимально высокими количественно-качественными характеристиками, обеспечивающими максимально возможный экономический эффект, помимо обеспечения высокого уровня кормления и зоотехнии, необходимо максимально ранняя диагностика и своевременное лечение пушных зверей от эймериидозов.

### **2.2.15.2 Изучение терапевтической эффективности антигельминтиков против гельминтозов пушных зверей**

Применением современных антигельминтных препаратов можно предотвратить экономические потери от нематодозов пушных зверей, которые как было выяснено в ходе настоящей работы достаточно широко распространены в звероводческих хозяйствах разных регионов РФ. Они оказывают негативное влияние на упитанность животных, размер шкурок и качество меха. Все перечисленное ставит перед исследователями задачи совершенствования мер борьбы с инвазией, чем и объясняется то неослабевающее внимание ученых по всему миру к поиску и испытанию новых противопаразитарных лекарственных средств.

Следует отметить, что из современных антигельминтиков, применяемых при нематодозах пушных зверей (пиперазин, нилверм, фенбендазол, фебантел и др.) большинство составляют импортные препараты, которые не могут решить проблему борьбы с гельминтозами в силу ограниченного количества их закупки и дороговизны.

Для регулярного проведения лечебно-профилактических мероприятий в звероводческих хозяйствах необходимы высокоэффективные отечественные антигельминтики, производимые в значительных объемах и по доступной цене.

Современные антигельминтики должны характеризоваться широким спектром действия и селективной токсичностью для паразитов и низкой токсичностью для хозяев. Такая избирательность в воздействии основана на существенных физиологических и биохимических различиях между паразитом и хозяином.

Усилиями многих исследователей за последние годы были созданы новые препараты, в т.ч. и антигельминтики, в их числе отечественный антигельминтик широкого спектра действия – «Эпримек», который ранее не был испытан при гельминтозах пушных зверей. Исходя из вышесказанного, мы поставили перед собой задачу испытать лечебную эффективность

антигельминтика широкого спектра действия «Эпримек» при гельминтозах песцов, разработанного ООО НПО «АПИ-САН».

#### **2.2.15.2.1 Лечебная эффективность антигельминтика «Эпримек» на песцах**

Результаты данного этапа исследования опубликованы в статье «Эффективность антигельминтика эпримек на песцах» [121].

В ходе испытания лекарственного препарата «Эпримек» нами были отобраны пробы от 180 песцов (140 самок, 40 самцов) в возрасте 1,5-2,5 лет. У 33 животных в фекалиях были обнаружены яйца *T. canis*, 25 песцов были заражены *T. leonina*. Из 58 больных животных у 11 наблюдалась микстинвазия, одновременное паразитирование *T. canis* и *T. leonina*. Также у всех подопытных животных нами были обнаружены путем взятия соскоба из ушной раковины и визуального осмотра *O. cynotis* и *Stenocephalides sp.* у 58 больных животных и послужили для второго этапа исследований эффективности препарата «Эпримек».

Диагнозы были поставлены на основании эпизоотологических данных, клинических наблюдений, патологоанатомических и лабораторных исследований. Препарат «Эпримек» в 1 мл содержит в качестве действующего вещества 10 мг эприномектина и вспомогательные компоненты: диметилацетомид, бензиловый спирт и триглицериды, что позволяет этому препарату обладать широким спектром противопаразитарного действия на имагинальные и личиночные фазы чесоточных клещей. Эприномектин нарушает работу глутаматчувствительных хлорных каналов мембран клеток, а также рецепторов гамма аминокислотной кислоты у круглых гельминтов, клещей и их личинок. Изменение величины тока ионов хлора через мембраны нервных и мышечных клеток нарушает проведение импульсов, что приводит к параличу и гибели паразитов.

После первого этапа выделения животных, страдающих от паразитов, зараженных песцов разделили на две группы. В первую группу вошло 28 животных, а во вторую – 30. В первой подопытной группе обработку

животных проводили препаратом «Эпримек», который вводили из расчета 0,2 мл препарата на 10 кг массы животного (200 мкг действующего вещества на 1 кг веса животного), однократно. Контрольная группа при этом содержится в обычных условиях и препарат не получает. Повторные пробы фекалий отбираются на 3, 7, 14 и 21 день после дачи препарата.

Нами были получены следующие данные. В первой группе эффективность препарата «Эпримек» в дозе 0,2 мл на 10 кг массы тела животного однократно составила 96,66% по отношению к *T. canis* и *T. leonina*. Из побочных явлений отмечено, что спустя 30-40 минут после проведенной инъекции, у 1-го песца наблюдалась рвота и повышенная саливация. У животных первой группы при копроовоскопии на 7-й, 14-й и 21-й день опыта яиц гельминтов обнаружено не было. В контрольной группе у всех животных выявили яйца гельминтов. После завершения первой части испытаний контрольная группа подверглась также обработке препаратом «Эпримек» в той же дозе однократно. Эффективность препарата составила 93,3% на 3-й день после обработки у всех животных из этой группы на 3-й, 14-й и 21-й день яиц гельминтов не обнаружено. На вторые, третьи сутки животные избавились от блох, а в ушных соскобах количество клещей *O. cynotis* сократилось с 8-10, в поле зрения, до 1-2 штук, а на 11 день животные полностью избавились от данной инвазии.

**Выводы.** В результате исследований установили, что препарат «Эпримек» имеет высокую противопаразитарную эффективность, против различных видов гельминтов, арахнозов и энтомозов, выявленных в данном хозяйстве у песцов. Эффективность данного препарата против токсокароза, токсаскариоза песцов в дозе 0,2 мл на 10 кг (200 мкг на 1 кг веса животного по ДВ) внутримышечно, однократно, составила 93,3-96,6%. Эффективность препарата эпримек в дозе 0,2 мл на 10 кг массы тела животного против отодектоза и афаниптероза составила 100%.

«Эпримек» может быть рекомендован в качестве препарата широкого спектра действия для лечения гельминтозов – токсокароза и токсаскариоза,

арахноэнтомозов – отодектоза и афаниптероза песцов в промышленном звероводстве в дозе 0,2 мл на 10 кг массы тела животного, однократно. Эти данные вошли в инструкцию к препарату «Эпримек» – РК-ВП-5-3476-17 от 25.06.2017.

#### **2.2.15.2.2 Лечебная эффективность антигельминтика «Эпримек» на лисицах**

Результаты этого исследования опубликованы в статье «Клинические испытания антигельминтика широкого спектра действия - «Эпримек» на лисицах» [110].

В ходе испытания лекарственного препарата «Эпримек» нами были отобраны пробы от 120 лисиц (из них 109 самок, 11 самцов), разного возраста. У 31 животных в фекалиях были обнаружены яйца *T. canis*, 5 лисиц были заражены *T. leonina*, и у 4-х были выявлены яйца *Tr. vulpis*. Из 40 больных животных у 15-ти наблюдалась микстинвазия, одновременное паразитирование *T. canis* и *T. leonina*. Диагнозы были поставлены на основании эпизоотологических данных, клинических наблюдений, патологоанатомических и лабораторных исследований.

Лисиц разделили на две группы по 20 животных в каждой. В первой группе обработку животных проводили препаратом «Эпримек», который вводили из расчета 0,2 мл препарата на 10 кг массы животного (200 мкг действующего вещества на 1 кг веса животного) однократно. Контрольная группа при этом содержится в обычных условиях и препарат не получает. Повторные пробы фекалий отбираются на 7, 14 и 21 день после дачи препарата.

В первой группе нами были получены следующие результаты. Эффективность препарата «Эпримек», введенного однократно в дозе 0,2 мл на 10 кг массы тела животного однократно составила 90,0% по отношению к *T. canis* и *T. leonina*, в одной повторной пробе мы обнаружили единичные яйца *Tr. vulpis*. Из побочных явлений отмечено, что спустя 10-15 минут после проведенной инъекции, у двух лисиц наблюдалась рвота и повышенная

саливация. У животных первой группы при копроовоскопии на 7-й, 14-й и 21-й день опыта яйца гельминтов обнаруживались лишь в двух пробах. В контрольной группе у всех животных выявили яйца гельминтов.

После завершения первой части испытаний контрольная группа подверглась обработке препаратом «Эпримек» в той же дозе однократно. Эффективность препарата составила 95% на 3-й день, после обработки животных лишь у одной лисицы были обнаружены яйца *T. canis* и *Tr. vulpis*, у всех остальных животных из этой группы на 3-й, 14-й и 21-й день яиц гельминтов не обнаружено.

В результате исследований установили, что препарат «Эпримек» имеет высокую антигельминтную эффективность против различных видов нематод. Эффективность данного препарата против токсокароза, токсаскариоза и трихоцефалидоза лисиц в дозе 0,2 мл на 10 кг (200 мкг на 1 кг веса животного по ДВ) внутримышечно однократно составила 90,0-95,0%.

«Эпримек» был рекомендован в качестве препарата широкого спектра действия для лечения нематодозов в промышленном звероводстве в дозе 0,2 мл на 10 кг массы тела животного, однократно. Эти данные вошли в инструкцию к препарату «Эпримек» – РК-ВП-5-3476-17 от 25.06.2017.

### **2.2.15.2.3 Лечебная эффективность антигельминтика «Иверсан» на песцах**

Материал данного раздела был использован для получения патента №2568906 «Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных» [165].

В ходе испытания лекарственного препарата «Иверсан» нами были отобраны пробы от 120 песцов (из них 80 самок, 40 самцов), в возрасте 1,5-2 лет. У 12 животных в фекалиях были обнаружены яйца *T. canis*, 23 песца были заражены *T. leonina*. Из 35 больных животных у 11 наблюдалась микстинвазия, одновременное паразитирование *T. canis* и *T. leonina*.



Диагнозы были поставлены на основании эпизоотологических данных, клинических наблюдений, патологоанатомического и лабораторных исследований.

Песцов разделили на две группы. В первую группу вошло 20 животных, а во вторую 15. В первой группе обработку животных проводили препаратом «Иверсан», который задавали перорально из расчета 0,05 мл препарата на 10 кг массы животного (200 мкг действующего вещества на 1 кг веса животного) однократно. Контрольная группа при этом содержится в обычных условиях и препарат не получает. Повторные пробы фекалий отбираются на 7, 14 и 21 день после дачи препарата.

Нами были получены следующие данные: в первой группе эффективность препарата «Иверсан» в дозе 0,05 мл на 10 кг массы тела животного однократно составила 90% по отношению к *T. canis* и *T. leonina*. Из побочных явлений отмечено, что спустя 30-40 минут после проведенной инъекции, у 1-го песца наблюдалась рвота и повышенная саливация. У животных первой группы при копроовоскопии на 7-й, 14-й и 21-й день опыта яйца гельминтов обнаружено не было. В контрольной группе у всех животных выявили яйца гельминтов. После завершения первой части испытаний контрольная группа подверглась обработке препаратом «Иверсан» в той же дозе однократно. Эффективность препарата составила 93,3%, на 3-й день после обработки животных лишь у одного песца были обнаружены яйца *T. canis*, у всех остальных животных из этой группы на 3-й, 14-й и 21-й день яиц гельминтов не обнаружено.

В результате исследований установили, что препарат «Иверсан» имеет высокую противопаразитарную эффективность против различных видов гельминтов. Эффективность данного препарата против токсокароза, токскарриоза песцов в дозе 0,05 мл на 10 кг (200 мкг на 1 кг веса животного по ДВ) перорально однократно составила 90,0-93,3%.

«Иверсан» был рекомендован в качестве препарата широкого спектра действия для лечения гельминтозов – токсокароза и токскарриоза песцов в

промышленном звероводстве в дозе 0,05 мл на 10 кг массы тела животного однократно. Эти данные вошли в инструкцию к препарату «Иверсан» – 77-3-2.19-4435№ПВР-3-12.15/03238 от 13.03.2019.

#### **2.2.15.2.4 Применение антиоксиданта «Эмидонол 10%» на песцах и енотовидных собаках на фоне дегельминтизации**

Результаты этого исследования опубликованы в статье «Дегельминтизация песцов и енотовидных собак на фоне антиоксиданта Эминол» [104].

Лечебную эффективность «Эмидонола 10%» на фоне проведения дегельминтизации «Фебтал гранулами» при токсокарозе, токсамидозе, песцов и енотовидных собак проводили с августа по сентябрь 2012 года. После проведения копроскопических исследований, выявленных больных животных (80 песцов и 50 енотовидных собак) отсадили в отдельный шед и взвесили. Пушным зверям (из них 70 песцам и 40 енотовидным собакам) задали антигельминтик «Фебтал гранулы» ООО «НВЦ Агроветзащита» в дозе 1,0 г/15 кг 1 раз в день 2 дня подряд вместе с кормом. За два дня перед дегельминтизацией и 13 дней после нее пушным зверям вводили внутримышечно раствор «Эмидонола 10%» в дозе 0,1 мл/кг массы тела животного (предварительно животные были взвешены) один раз в сутки. Всего было сделано 15 инъекций. По 10 голов каждого вида животных, больных нематодами, не обрабатывались и служили контролем.

После назначения препаратов за животными, находящимися в одинаковых условиях кормления и содержания, в течение 15 дней вели клинические наблюдения. Антигельминтную эффективность выявляли по результатам копроскопических исследований на 10-й, 14-й и 30-й день.

После проведения лечебной дегельминтизации у животных при копроскопическом исследовании на 10-й день яйца токсокар, токсамид были обнаружены у 5 песцов и 3-х енотовидных собак, эффективность «Фебтал гранул» против данных паразитов составила 92,85% и 92,5% соответственно.

Экстенсивность инвазии животных в контрольной группе животных оставалась на прежнем уровне, лишь интенсивность инвазии у некоторых животных колебалась.

Отхождение гельминтов с фекалиями началось со второго дня и продолжалось три дня. При лабораторной диагностике фекальных масс у животных на 14-й и 30-й день яйца токсокар, токсаскарид были обнаружены у трех песцов и трех енотовидных собак. В контрольной группе картина не изменилась.

Проведенная профилактика антиоксидантом «Эмидонолом 10%» показала, что состояние животных после применения препарата не ухудшилось. Отклонений от физиологической нормы после 15 дневного курса применения «Эмидонола 10%» не выявлено. Животные, которые получили антиоксидантную терапию, быстро оправались после дегельминтизации. У данной группы животных отмечено повышение аппетита, что способствовало набору массы тела, после повторного взвешивания животные набрали в среднем  $(130 \pm 10)$  г.

**Выводы.** 10% раствор «Эмидонола», вводимый в дозе 0,1 мл/кг массы тела животного внутримышечно ежедневно в течение 15 дней, с профилактической целью на фоне применения антигельминтика, показал отсутствие побочных явлений. Общее состояние животных было хорошее, они быстрее восстановились после обработки антигельминтиком, эффективность которого составляла 92,8% у песцов и 92,5% у енотовидных собак, случаев диареи выявлено не было. В течение всего курса у животных был хороший аппетит [104].

#### **2.2.15.2.5 Экономическая эффективность применения антигельминтиков при нематодозах песцов и лисиц**

Результаты этого исследования опубликованы в статье «Сравнение экономической эффективности антигельминтных препаратов «Иверсан» и «Эпримек» [115].

Во время проведения производственных опытов на лисицах и песцах

были испытаны два лекарственных препарата отечественного производства, обладающих широким спектром противопаразитарного действия.

В первом испытании апробирован лекарственный препарат «Иверсан», действующим веществом которого является 4% ивермектин (ООО «НВЦ Агроветзащита»). «Иверсан» был испытан на 120 песцах в возрасте от 1,5 до 2 лет, из них 80 самок и 40 самцов. В результате лабораторных исследований у 12 животных в фекалиях были обнаружены яйца *T. canis*, у 23 песцов *T. leonina*. Из 35 больных животных у 11 наблюдалась микстинвазия, одновременное паразитирование *T. canis* и *T. leonina*.

Во втором испытании апробирован лекарственный препарат «Эпримек». Действующим веществом препарата является 1% эприномектин (ООО НПО «Апи-Сан»). «Эпримек» испытан на 180 песцах, из которых 140 самок и 40 самцов в возрасте от 1,5 до 2 лет и на 120 лисицах, среди которых 109 самок, 11 самцов разного возраста.

Целью нашей работы было рассчитать экономическую эффективность применения препаратов широкого спектра действия, которые используются в борьбе с гельминтозами в звероводческих хозяйствах.

В результате проведенных нами ранее лабораторных исследований было установлено, что оба препарата доказали свою высокую эффективность.

Таким образом, противопаразитарная эффективность препаратов не имела достоверных отличий, т.е. выход готовой продукции был одинаковый, и учитывать экономический ущерб от потери качества шкурки нет необходимости. В связи с этим для сравнения экономической эффективности достаточно произвести сравнение экономической эффективности затрат на ветеринарные мероприятия.

Для расчета стоимости дозы одной обработки на 10 кг живой массы животного использовали формулу:

$$C = S \times D \div V,$$

где С – стоимость одной дозы препарата на 10 кг веса

S – Стоимость флакона препарата

D – Доза препарата на 10 кг живой массы

V – Объем препарата во флаконе

Стоимость флакона 100 мл «Иверсан» – 481 Р, стоимость флакона 100 мл «Эпримек» – 897Р на момент исследования, и стоимость одной дозы препарата «Иверсан» – 0,240 Р, а препарата «Эпримек» – 1,794 Р. Таким образом, применение препарата «Иверсан» в 7,5 раз экономически выгоднее, чем при использовании препарата «Эпримек».

**Выводы.** Результаты нашего исследования показали, что противопаразитарная эффективность препаратов не имела достоверных отличий, а ветеринарные мероприятия при использовании «Иверсан» в 7,5 раз экономически выгоднее, чем использование препарата «Эпримек» [115].

### **2.2.15.3 Изучение терапевтической эффективности инсектоакарицидных препаратов у пушных зверей**

Основными методами борьбы с эктопаразитами в настоящее время являются применение инсектоакарицидных препаратов из разных химических групп. Ранее для терапии пушных зверей больных арахноэнтомозами применялись следующие химические вещества: хлорорганические соединения (ХОС), фосфорорганические (ФОС), циклодиеновые, карбаматы, пиретроиды и препараты серы. Одни из них являются эффективными, но обладают высокой токсичностью для теплокровных животных, другие обладают слабым акарицидным действием. Часто из-за неправильного или недостаточного применения различных препаратов у членистоногих и насекомых вырабатывается иммунитет к данным соединениям. Это привело к тому, что больше половины всех известных на сегодня препаратов не оказывают должного (смертельного) эффекта на насекомых и клещей, эти случаи описаны по всему миру, а не только в нашей стране. Известны случаи, когда устойчивость членистоногих успевает развиваться так быстро, что еще в процессе доклинических испытаний нового лекарственного средства или субстанции, до начала его промышленного выпуска, эффективность применения падала и испытуемый препарат становился настолько

беспольным, что совершенно исключалась возможность какого бы то ни было дальнейшего применения этого препарата.

Обратной стороной является то, что, не получая положительного эффекта от рекомендуемых в инструкции доз инсектоакарицидных препаратов, ветеринарные специалисты вынуждены увеличивать дозы, повышать концентрации применяемых растворов и частоту обработок. Это приводит опять же к появлению устойчивых форм паразитов, а также загрязнению окружающей среды и продуктов животноводства остатками препаратов (пестицидов) со всеми вытекающими отсюда отрицательными последствиями на организм животных и впоследствии на человека.

В связи с этим, разработчики новых лекарственных средств работают над созданием все новых молекул и соединений с иными механизмами действия и поиском такой стратегии применения инсектицидных средств, которая могла бы предупредить формирование резистентности у членистоногих и насекомых.

В последние годы для борьбы с арахноэнтостомами у пушных зверей применяют фосфорорганические препараты, пиретроиды и макроциклические лактоны, которые уничтожают насекомых и клещей, паразитирующих на животных, сравнительно быстро способны разрушаться во внешней среде, что снижает опасность применения данных соединений на животных и не оказывает губительного воздействия на окружающую среду.

Вместе с тем, недостаточно изучено токсическое действие новых инсектоакарицидных препаратов на организм именно пушных зверей. Учитывая все вышеизложенное, считаем важным продолжать изыскания новых химических соединений и веществ, обладающих выраженным инсектоакарицидным действием.

### 2.2.15.3.1 Испытание акарицидных свойств диатомитового тонкодисперсного порошка на тест объектах – клещах

#### *Dermanyssus gallinae*

Результаты данного этапа исследования опубликованы в статье «Испытание акарицидных свойств диатомитового тонкодисперсного порошка на тест объектах – клещах *Dermanyssus Gallinae*» [106].

29 мая 2014 года в лабораторию по изучению паразитарных болезней ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» поступило от компании ООО «Биотроф» и ООО «Диамикс» два образца, упакованных в пластиковую тару с крышкой. Оба этих образца представляли собой порошок светло-бежевого цвета, по консистенции напоминающего муку, позже нам стало известно, что это диатомитовый тонкодисперсный порошок, который изготавливается из тонкодисперсного диоксида кремния биогенного происхождения, который получают в результате специальной комбинированной активации природного диатомита.

Цель эксперимента – определение акарицидных свойств порошка образца №1 и №2 на тест объектах – клещах *Dermanyssus gallinae*.

Эти клещи наиболее схожи по морфологии и жизненному циклу с другими представителями паукообразных, членистоногих животных и удобны для лабораторных опытов из-за своей доступности. Если исследуемый порошок обладает акарицидным действием на этих паразитов, то он скорее всего также эффективен и против других клещей (отряда Acariformes и Parazitiformes).

Ход проведения опыта: опыты проводили на клещах *D. gallinae*, собранных в птицеводческом хозяйстве. Клещи были в стадии личинок, нимф и имаго.

На дно 6 чашек Петри (ЧП) была помещена фильтровальная бумага, которая у 5 была обработана порошком (образец №1 и №2), предварительно диатомитовая мука взвешивалась нами на электронных весах.

Далее опыт проходил следующим образом:

- Ч.П. № 1 – сухой порошок образец №1 (навеска 1 г);  
 Ч.П. № 2 – сухой порошок образец №2 (навеска 1 г);  
 Ч.П. №3 – суспензированный порошок образец №1 (навеска 1 г);  
 Ч.П. №4 – суспензированный порошок образец №2 (навеска 1 г);  
 Ч.П. №5 – 1% водный раствор порошка образец №1;  
 Ч.П. №6 (К) – контроль (фильтровальная бумага не была ничем обработана).

Далее на фильтровальную бумагу поместили красных куриных клещей (личинки, нимфы и имаго) в количестве  $\approx 30$  особей на одну чашку Петри.

Во время опыта проводили наблюдение за жизнеспособностью клещей на бинокулярной лупе МБС-10 с фотокамерой на 3 Мрiх.

Результаты исследований. Ниже представлены данные о гибели клещей в условиях опыта 1-6 (Таблица 2.2.15.3.1.1).

Таблица 2.2.15.3.1.1 – Акарицидные свойства образцов порошка №1 и №2 при различных условиях применения

№Ч.П.	Через 24 часа		Через 4-ро суток	
	живых	погибших	живых	погибших
1	0	30	0	30
2	0	30	0	30
3	4	26	0	30
4	10	20	2	28
5	26	4	25	5
6	30	0	30	0

После помещения тест объектов в Ч.П. №1 и №2 уже через 10-15 минут клещи становились менее подвижны, по сравнению с контролем, они двигались на месте, передвигая всеми четырьмя парами конечностей. Уже через 20 часов с начала проведения опыта все клещи на разных стадиях развития, участвовавших в опыте (имаго, нимфа и личинка) в Ч.П. №1 и №2 погибли, акарицидный эффект составил 100% (Рисунок 2.2.15.3.1.1 А, Б).



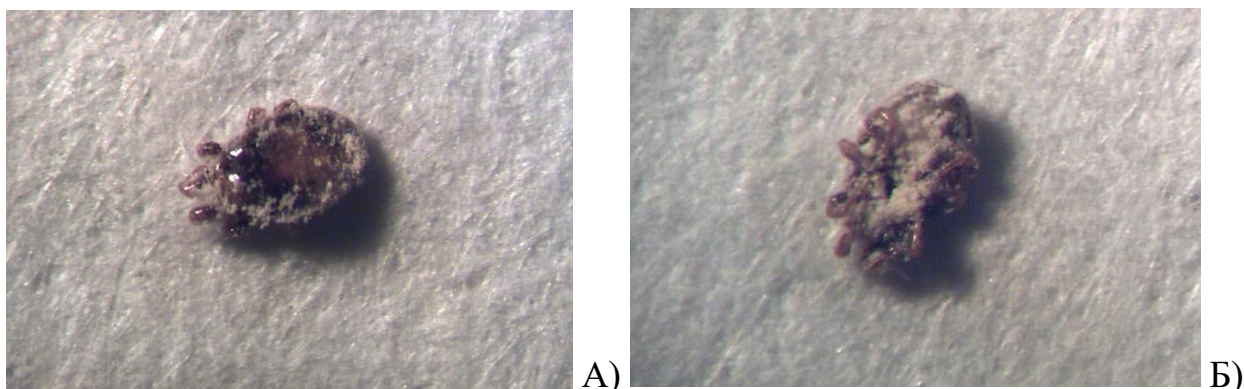
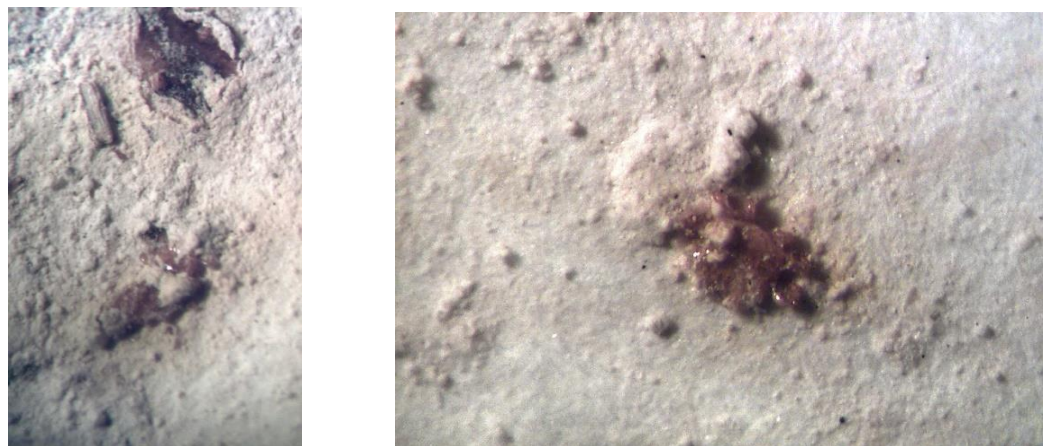


Рисунок 2.2.15.3.1.1 – Результат действия порошка в Ч.П. 1 и 2 на клещей *D. gallinae* (А) – дорсальная сторона, (Б) – вентральная сторона клеща (оригинал)

В Ч.П. №3 через 24 часа было обнаружено 26 мертвых клещей, остальные двигались по стенкам и крышке Ч.П., суспензия за это время высохла и превратилась в однородную сухую массу бежевого цвета. На четвертый день опыта в данной Ч.П. все клещи погибли. Акарицидный эффект составил 100% (Рисунок 2.2.15.3.1.2).



Рисунки 2.2.15.3.1.2 – Мертвые клещи на разных стадиях развития в Ч.П. №3 и 4 (оригинал)

В Ч.П. №4 наблюдались те же изменения, что и в Ч.П. №3; за первые сутки погибло 20 клещей, а к концу опыта – 28. Акарицидный эффект составил 93,3% (Рисунок 2.2.15.3.1.2)

В Ч.П. №5, обработанной 1% водным раствором порошка (образец №1), в течение 24 часов погибло 4 клеща, а в течение всего опыта – 5. Акарицидная активность составила 16,66%.



Рисунок 2.2.15.3.1.3 – Мертвый клещ из Ч.П. №5, обработанный 1% водным р-ром порошка (оригинал)

Клещи в Ч.П. №6 служили контролем и ничем не обрабатывались (Рисунок 2.2.15.3.1.4 (А, Б)).



А)



Б)

Рисунки 2.2.15.3.1.4 (А, Б) – Клещи из контроля на протяжении всего опыта оставались живыми (оригинал)

**Выводы.** 1) Применение диатомитового тонкодисперсного порошка оправдано, т.к. данное вещество обладает выраженным акарицидным действием, которое направлено на забивание частицами порошка дыхательных путей членистоногих. В связи с этим, это средство обладает безоговорочным преимуществом по сравнению с инсектоакарицидными препаратами, т.к. у клещей на данное вещество не сможет выработаться со временем привыкание и резистентность.

2. Оба порошка (образец №1 и №2) обладают акарицидным действием, особенно в сухом порошкообразном виде, в Ч.П. №1 и №2, обработанных препаратами в течение первых 24 часов летальность составила 100%.

3. Акарицидное действие водной суспензии менее выраженное, но также эффективное.

4. Применение 1% водного раствора показало эффективность лишь в 16,66%, по сравнению с другими подопытными группами. Низкую акарицидную активность можно объяснить тем, что порошок практически не растворим в воде, поэтому раствор был больше похож на водную эмульсию с взвешенными частицами порошка.

5. Дальнейшая работа по изучению и применению диатомитового тонкодисперсного порошка должна быть направлена на разработку средств доставки и нанесения на поверхности в животноводческих помещениях и на тела животных [106].

#### **2.2.15.3.2 Лечебная эффективность комплексного препарата «Иверсан» на песцах**

Результаты данного этапа исследования опубликованы в статье «Эффективность препарата «Иверсан» при демодекозе плотоядных» [122].

В третьей группе подопытных животных было восемь песцов, больных саркоптозом. У всех животных были одинаковые симптомы: поражения в области головы, шеи. На данных участках отмечались алопеции, бесшерстные места, ссадины, корочки, утолщенная кожа, сильный зуд. После взятия соскобов с границы здоровых и пораженных участков кожи были обнаружены клещи *Sarcoptes s. var. canis*, в одном соскобе 4-6 особей. Назначено лечение: 0,2 мл 4%-го раствора ивермектина на полиэтиленгликоле 400 перорально один раз в день, через 2 дня на третий. Животные перестали чесаться уже на 14-й день, но в нескольких соскобах обнаружены единичные клещи. На 21-й день в соскобах клещей не обнаружили, зуд отсутствует. Таким образом, в ходе проведения испытаний заявленного способа на различных видах сельскохозяйственных животных, в том числе и на птице, а также различных видах плотоядных животных, больных гельминтозами и арахноэнтомозами, была доказана его высокая эффективность, как при монотерапии, так и в совокупности одновременного применение неспецифической и иммунокорректирующей терапии. Пероральное введение ивермектина в концентрации 4% сельскохозяйственными плотоядным животным по

предложенным схемам лечения с учетом возраста животных и особенностей течения различных форм болезни, позволяет в кратчайшие сроки ликвидировать инвазию при снижении затрат на проведение обработок, не оказывает стрессового и побочного действия на организм животных.

В ходе испытания лекарственного препарата «Иверсан» нами были взяты соскобы с границы здоровых и пораженных участков кожи от 12 песцов (из них 8 самок, 4 самца) в возрасте 1,5-2 лет. У всех животных были обнаружены клещи *Sarcoptes s. var. canis*, в одном соскобе по 4-6 особей. У всех животных были одинаковые симптомы: поражения в области головы, шеи. На данных участках отмечались алопеции, бесшёрстные места, ссадины, корочки, утолщенная кожа, сильный зуд.

Больным животным задавали препарат «Иверсан» в дозе 0,05 мл на 10 кг массы тела, что соответствует 200 мкг ивермектина на 1 кг массы животного перорально один раз в 3 дня.

Животные перестали чесаться уже на 14-й день, но в нескольких соскобах обнаружены единичные клещи. На 21-й день в соскобах клещей не было, зуд отсутствовал.

Таким образом, в ходе проведения испытания препарата «Иверсана» при саркоптозе песцов была доказана его высокая эффективность. Иверсан был рекомендован в качестве препарата против саркоптоза песцов в промышленном звероводстве в дозе 0,05 мл на 10 кг массы тела, что соответствует 200 мкг ивермектина на 1 кг массы животного перорально один раз в 3 дня, в течение 3 недель. Эти данные вошли в инструкцию к препарату «Иверсан» – 77-3-2.19-4435№ПВР-3-12.15/03238 от 13.03.2019.

### **2.2.15.3 Применение пробиотических и фитобиотических кормовых добавок у пушных зверей**

Для обеспечения высокой продуктивности и снижении падежа продуктивных животных при интенсивном выращивании, производители вынуждены добавлять в рацион, синтетические антибиотики. Длительное

бессистемное применение приводит к развитию антибиотикорезистентности бактерий, эффективность применения данных препаратов резко снижается.

Паразитозы у животных влияют на микрофлору в ЖКТ, что негативно сказывается на общем состоянии животных, поэтому одной из наиболее важных и до сих пор нерешенных проблем является изыскание средств и методов неспецифической иммунопрофилактики при паразитарных болезнях.

#### **2.2.15.3.1 Применение нового фитосорбционного комплекса при диарее у норок больных эймеридозами**

Результаты текущего раздела исследования опубликованы в статье «Use of a new phytosorption complex for diarrhea in animals» [242].

Проблема повышения резистентности микроорганизмов и снижение эффективности антибиотиков заставляет специалистов во всем мире искать новые средства для лечения и профилактики заболеваний животных. Таким решением, по мнению многих исследователей, считается внедрение в практику биологически активных веществ, а именно фитобиотиков. Фитобиотики имеющие в своем составе активные вещества, которые обогащают рацион витаминами и микроэлементами. Содержащиеся в растениях эфирные масла обладают антимикробным и антиоксидантным действиями.

Наши исследования были проведены в несколько этапов. Исследование по антимикробной активности нового препарата проводили *in vitro* методом диффузии в агар в отношении следующих референтных штаммов микроорганизмов – *E. faecalis*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *Ps. aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *St. aureus* и *C. albicans*. Для проведения исследования готовили взвесь, содержащую стандартное число микроорганизмов, которую высевали на слой питательного агара в чашки Петри. Учет антимикробной активности проводили путём замера зоны угнетения роста микроорганизмов.

В результате проведенных экспериментов нами получены следующие данные. В связи с тем, что благодаря входящим в состав растительным компонентам, новый фитосорбционный комплекс содержит такие вещества

как тимол и корвакрол, первостепенной задачей при оценке эффективности *in vitro* была оценка антимикробной активности. Некоторые вещества, например, тимол, обладают антиоксидантной активностью. Это особенно важно в ветеринарной практике, в частности ведения хозяйства, когда большая скученность животных, технологические стрессы играют негативную роль в достижении высокой продуктивности. Основным механизмом антимикробного действия компонентов является снижение адгезивной способности микроорганизмов – главного определяющего фактора бактериальной и грибковой вирулентности. Результаты эксперимента отражены в таблице 2.2.15.3.1.1.

Таблица 2.2.15.3.1.1 – Антимикробная активность нового фитосорбционного комплекса

Микроорганизмы	Зона угнетения роста, мм
<i>Escherichia coli</i>	18,2±0,45
<i>Staphylococcus aureus</i>	13,0±0,25
<i>Enterococcus faecalis</i>	11,4±0,31
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10,3±0,21
<i>Salmonella typhimurium</i>	19,2±0,24
<i>Proteus mirabilis</i>	9,1±0,32
<i>Candida albicans</i>	11,6±0,30

Согласно полученным данным, новый фитобиотический комплекс обладает выраженным антимикробным действием в отношении *E. coli* и *S. typhimurium* 18,2±0,45 мм и 19,2±0,24мм, соответственно. Зона задержки для *St. aureus* составила 13,0±0,25мм, для *P. aeruginosa* – 10,3±0,21 мм.

Проведенные исследования показали, что новый фитосорбционный комплекс обладает выраженным антимикробным действием. Данный препарат может представлять интерес для ветеринарных специалистов при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта и повышения продуктивности животных.

Следующим этапом наших исследований стало изучение лечебного эффекта нового фитосорбционного комплекса, на разных видах животных, параллельно опыт проводился на телятах, свиньях, а также на норках.

В одном из звероводческих хозяйств, расположенном в Ленинградской области. Для проведения исследования было отобрано 120 спонтанно инвазированных эймериидозами норок в возрасте от года до двух.

По результатам копроскопических исследований животные были поделены на 2 группы – контрольная и подопытная, по 60 голов в каждой. У всех животных наблюдалась хроническая диарея. Подопытной группе норок на фоне однократного применения специфической терапии препаратом «Стоп-кокцид», в дозе 0,4 мл на 1 кг массы тела животного, вводили также новый фитосорбционный комплекс в лечебной дозе 1,5 г/кг, который задавали вместе с кормом больным эймериозом и изоспорозом норкам. Контроль специфического лечения не получал.

Изучение эффективности применения препарата «Стоп-кокцид» на фоне нового фитосорбционного комплекса у норок в звероводческом хозяйстве показал, что у животных, получавших вместе со специфической терапией кормовую добавку в дозе 1,5 г/кг, уже на третьи сутки прекращалась диарея, а в повторных пробах фекальных масс ооцисты не обнаруживались.

В современной ветеринарной практике все чаще возникает вопрос об использовании в кормлении животных препаратов, которые обладают антимикробным и иммуностимулирующим действиями. При этом, эффективность средств адаптогенного свойства, существенно возрастает при их применении в переходные периоды функционального состояния организма. Так, их запрет на использование, в странах ЕС, послужил поводом для разработки экологически чистых и безопасных препаратов, которые можно использовать не только как профилактику, но и в качестве лечения расстройств желудочно-кишечного тракта, в т.ч. вызванных эймериидозами.

Резюмируя проведенные исследования можно сделать вывод о перспективности дальнейших исследований нового фитосорбционного комплекса при заболеваниях желудочно-кишечного тракта у животных [242].

## **2.2.16 КОМПЛЕКС МЕРОПРИЯТИЙ ПО БОРЬБЕ С КИШЕЧНЫМИ ПАРАЗИТОЗАМИ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ В ХОЗЯЙСТВАХ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА РФ**

Инвазионные болезни оказывают существенный экономический ущерб звероводческим хозяйствам, недополученная прибыль не дает развиваться им в условиях высокой конкуренции на рынке из-за иностранных производителей пушнины. Учитывая разницу в цене от реализации шкур клинически здоровых и больных животных, а также отхода молодняка из-за паразитарных болезней, становится более выгодным проведение лечебно-профилактических мероприятий, учитывая, что сохранение здоровья животных покрывает расходы на закупку необходимых для этого препаратов и позволяет делать производство пушнины в промышленных масштабах более рентабельным.

Комплекс мероприятий по борьбе с кишечными паразитами пушных зверей в хозяйствах Северо-Западного региона РФ должен быть направлен на получение здорового поголовья пушных зверей, свободных от протозоозов, гельминтозов и арахноэнтомозов, поэтому для успешной борьбы с ними должны проводиться мероприятия по недопущению заражения животных и обезвреживанию инвазионного начала во внешней среде. Все это возможно при широком использовании современных, качественных, отечественных и недорогих лекарственных препаратов, разработанных и апробированных на животных непосредственно на территории Северо-Западного региона, учитывая эпизоотическую обстановку, методы содержания, кормления и проводимые ранее ветеринарно-санитарные мероприятия в данных зверохозяйствах.

Организационно-хозяйственные мероприятия, которые входят в общий комплекс мероприятий непосредственно на звероводческих предприятиях, обычно совмещаются со специфическими, так как условия содержания, кормления являются неотъемлемой частью предупреждения распространения заразных болезней.



### 2.2.16.1 Организационно-хозяйственные мероприятия

- В целях предупреждения и ликвидации инвазионных болезней пушных зверей руководители и специалисты хозяйств должны осуществлять комплекс лечебно-профилактических, общих зоогигиенических, ветеринарно-санитарных и специальных мероприятий с учетом особенностей эпизоотологии и биологии возбудителей.
- Организационно-хозяйственные мероприятия, должны быть направлены на предупреждение заноса инвазионного начала извне на территорию фермы, а также обеспечение всех животных полноценными, качественными кормами и надлежащими условиями содержания, отвечающими требованиям зоогигиены.
- Зверофермы осуществляют свою деятельность как предприятия закрытого типа, поэтому категорически запрещен проход или проезд посторонних лиц на территорию ферм.
- Территория звероводческих предприятий должна быть огорожена по всему периметру забором, препятствующим бесконтрольному проходу людей и животных.
- Въезд на территорию звероводческого предприятия должен быть оборудован дезбарьерами, находящимися под навесом, заполненными опилками, смоченными 2% раствором едкого натрия, дезинфицирующим раствором с содержанием 2% активного хлора. Колеса въезжающего транспорта должны обрабатываться этими же растворами при помощи специальных распылителей. В зимнее время дезбарьеры должны или подогреваться, или в раствор должна добавляться 10%-я поваренная соль.
- Вольеры сторожевых (служебных) собак на территории ферм обустраиваются в строго отведенных для них местах, которые надлежащим образом должны регулярно убираться.
- На всех зверофермах, занимающихся клеточным разведением норок, песцов и лисиц, безусловно следует выполнять следующие требования:

- осуществлять кормление пушных зверей только доброкачественными мясными, рыбными и растительными кормами. При этом составленные рационы должны отвечать физиологическим потребностям животных в разные периоды их жизни и быть сбалансированными по переваримому протеину, углеводам, жирам, обменной энергии, витаминам и минеральным веществам;
- у животных должен быть постоянный доступ к свежей и чистой воде из водопровода или скважины; при автоматическом поении важно чтобы форсунки находились внутри клеток, в которых находятся животные;
- поставляемое для кормокухни сырье должно обязательно проходить ветеринарно-санитарную экспертизу;
- на еженедельной основе в зверохозяйстве должен проходить «санитарный день», во время которого сотрудниками ферм, бригад, обеспечивается чистота шедов, клеток (домиков и выгульных площадок), а также кормушек, поилок, инвентаря и предметов ухода;
- ежедневно очищать от загрязнений кормовые столики и поилки, очищать от экскрементов домики и места отдыха животных;
- фекальные массы под шедами следует периодически посыпать сверху опилками, а также не реже 2-х раз в год вывозить при помощи специального транспорта (неиспользуемого для развозки кормов) для биотермического обеззараживания;
- площадка для обезвреживания фекалий должна располагаться за пределами территории фермы на специально оборудованной территории, огороженной забором, в основе ее должна быть водонепроницаемая мембрана, не дающая просачиваться воде и попадать в водоносные слои почвы;
- в летнее время регулярно косить траву вокруг шедов;
- все сотрудники ферм должны быть обеспечены специальной одеждой и обувью, которую запрещено выносить за пределы закрепленной за этим сотрудником зоной;

- специальный инвентарь по уходу за животными должен быть промаркирован и закреплен за каждым отделением и бригадой, иметь свое место для хранения, а после каждого использования помещаться в специальный дезинфицирующий раствор;
- пушных зверей следует размещать в клетках с приподнятыми полами, в соответствии с ветеринарно-санитарными правилами;
- комплектование основного стада только здоровыми животными и одного возраста;
- перед размещением животных места их будущего нахождения (клетки, домики) необходимо механически очистить и дезинфицировать;
- снятие шкурок и проведение вскрытий осуществлять исключительно на территории специально отведенных для этого мест;
- запретить нахождение на территории ферм безнадзорных животных на территории ферм и вблизи кормокухни;
- на территории ферм необходимо регулярно осуществлять мероприятия по лечению и профилактике заразных болезней, дезинсекцию, дезинфекцию и дератизацию территории звероводческого предприятия;
- ветеринарные врачи обязаны информировать и разъяснять работникам ферм и местному населению, а также популяризировать знания (используя печатные средства массовой информации, радио, телевидение, проводя лекции и т.д.) о мерах борьбы с инвазионными болезнями;
- при обнаружении паразитозов, общих для животных и человека, таких, как: токсокароз, эхинококкоз, токсоплазмоз, трихинеллез и др., ветеринарный врач обязан сообщить местным органам здравоохранения для совместного проведения комплекса мер по предупреждению заражения людей и животных;
- сотрудники звероводческих предприятий должны ежегодно проходить обязательную медицинскую диспансеризацию; звероводы, не прошедшие медосмотр или больные зоонозными болезнями, к работе не допускаются;
- больных инвазионными болезнями животных по возможности изолируют и лечат специальными химиотерапевтическими препаратами.

### **2.2.16.2 Биологические мероприятия**

- Завоз животных возможен только из благополучных по заразным болезням хозяйств, перед отправкой животные должны быть обследованы копроскопически на эндопаразитов, в случае необходимости животных обрабатывают и только после повторного исследования дают разрешение на вывоз животных, при этом в ветеринарном свидетельстве делают отметку о том, чем животные ранее обрабатывались.
- Всех вновь ввозимых животных на территорию фермы необходимо содержать изолированно от основного поголовья в карантине сроком не менее 30 дней, а в первые 10 дней обследовать на заразные болезни.
- Сторожевых (служебных) собак и безнадзорных животных (кошек) на ферме необходимо кастрировать и постоянно регулировать их численность.

### **2.2.16.3 Специальные мероприятия**

- Диагноз на протозоозы, гельминтозы и арахноэнтомозы ставится с учетом эпизоотологических данных, клинических признаков, патологоанатомических изменений и результатов лабораторных исследований.
- Кишечные паразитозы пушных зверей протекают, как с ярко выраженными клиническими признаками, так и субклинически, без видимых отклонений в состоянии животных, а симптомы, в основном, зависят от резистентности животного, его возраста, условий кормления и содержания, реже – пола и окраса. Тем не менее, даже при субклиническом течении болезни и при низкой ИИ, возбудители паразитозов оказывают значительное патологическое воздействие на организм, что следует учитывать при постановке диагноза и проведении лечебных мероприятий.
- Окончательный диагноз на эймериидозы и нематодозы ставится на основании обнаружения ооцист кокцидий и яиц гельминтов, выделенных из фекальных масс флотационными методами (Фюллеборна, Дарлинга и др.)  
диагнозы на арахноэнтомозы – путем взятия соскобов с тела животных.

- В неблагополучных по инвазионным болезням зверохозяйствах необходимо ежемесячно обследовать копроовоскопически не менее 5% поголовья (выборочно), а служебных собак – поголовно, не реже одного раза в квартал.
- В случае обнаружения среди животных эймериоза, изоспороза, токсаскариоза, токсокароза и других инвазий, лечебно-профилактические обработки следует проводить, как среди больных, так и среди клинически здоровых животных.
- Для предотвращения рассеивания инвазии в окружающей среде, обнаруженных заболевших животных изолируют и лечат специфическими химическими препаратами, обеспечивающими ликвидацию болезней, вызванных паразитами.
- В качестве лечебно-профилактических мероприятий против гельминтозов наиболее эффективна преимагинальная дегельминтизация, воздействующая на паразитов, не достигших зрелости (не способных обсеменять внешнюю среду); так обработку против токсокароза следует проводить на 20-22-й день, а при токсаскариозе – на 50-й день после их рождения.
- Профилактическую дегельминтизацию взрослого поголовья песцов и лисиц следует проводить не реже 2-х раз в год. Первую – сразу после отсадки щенков (июнь-июль), вторую – перед гоном (в январе); лечебную дегельминтизацию – по мере обнаружения заболевших животных в любое время года.
- Беременных самок дегельминтизируют за месяц до щенения и спустя месяц после него; в качестве препаратов выбора рекомендуются антигельминтики с ДВ фенбендазолом в дозе 10 мг/кг, однократно.
- Не подлежат дегельминтизации самки за две недели до и после щенения, истощенные животные, а также в стадии острого течения заразных и незаразных болезней.

- Профилактику протозойных болезней норок, песцов и лисиц следует проводить в возрасте 1,5-2 месяцев сразу после отсадки от матерей (июнь-июль), затем у животных с клиническими проявлениями (по показаниям), после проведения копроовоскопии.
- При плановой лечебной или профилактической обработке животных специфическими противопаразитарными препаратами, обработку проводят вначале на ограниченной группе животных, при отсутствии побочных эффектов в течение 2-3 дней ее проводят на всем поголовье.
- Необходимо препараты задавать пушным зверям в смеси с кормом или водой (если препарат растворим) групповым способом в рекомендуемых терапевтических дозах до полного освобождения животных от паразитов.
- Через 10 суток после обработки следует провести повторное копроовоскопическое исследование, в случае положительного результата животных обрабатывают повторно либо препаратом с тем же ДВ, или другим.
- Необходимо отметить, что при частой обработке животных одними и теми же препаратами, у паразитов вырабатывается резистентность к данным химическим веществам, поэтому рекомендуется чередовать их после каждых 2-3 обработок.
- В качестве химиопрофилактики эймериидозов рекомендуется применять кормовой кокцидиостатик «Кокцисан» (КРКА), ДВ – салиномицин натрия 12%, в дозе 30 мг/кг два дня подряд вместе с кормом, препарат задается вместе с мешанкой, из расчета 500 г препарата на тонну корма, регулярно курсами не менее 4 раз в год.
- Не рекомендуется проводить химиопрофилактику кокцидиидозов путем длительного назначения животным половинных доз лечебных препаратов в смеси с кормами, т.к. это приведет к появлению устойчивости у данных паразитов.
- В качестве лечения зверей при изоспорозе и эймериозе назначают следующие препараты:

- «Стоп-кокцид» норкам в дозе – 0,4 мл на кг массы животного, песцам и лисицам в дозе – 0,2 мл на кг массы животного, однократно в смеси с кормом или водой. При необходимости курс повторяют через 5-7 дней. Положительные результаты получены нами при применении у норок препаратов с тем же ДВ и в той же концентрации (толтразурил 50 мг) – «Байкокс» и «Эймерм 5%» в дозе 0,4 мл на 1 кг массы тела животного, однократно (из расчёта 20 мг/кг по ДВ). Однако следует отметить, что в инструкциях к данным препаратам нет рекомендаций для применения их на пушных зверях.

- Эймериидозы оказывают иммуносупрессивное и гипоксическое воздействие на организм больных животных, поэтому на фоне применения специфической терапии рекомендуется использовать специальные иммуномодулирующие и антиоксидантные средства:

- «Фитодок<sup>®</sup>-иммуностим» – иммуномодулятор на растительной основе в качестве ДВ используется экстракт стеблей солянки листовенничной (*Salsola laricifolia*), в дозе 1 мл на 5 кг массы животного;

- антиоксидантный препарат «Эмидонол 5%», который вводят животным подкожно или внутримышечно, один раз в сутки в течение 5-7 дней, в дозе 0,2 мл/кг массы тела животного. Тот же препарат, но в концентрации 20%, применяют животным перорально групповым способом с водой в течение 15-30 дней, в дозе 2 мл на 10 кг массы тела животного.

- Для борьбы с патогенной микрофлорой, на фоне кокцидиидозов рекомендуется применять комплексный антимикробный препарат «Азициклин». Перед применением готовят водный раствор препарата «Азициклин» в отношении 1:2 (1 г Азициклина на 2 мл воды), затем его задают в дозе 1 мл/кг массы тела (3,5 мг/кг массы тела животного) 1 раз в сутки в течение 3-5 дней, при тяжелых случаях – до 7 дней.

- Эффективность противоккокцидийной обработки животных устанавливают путем копроскопии на 5-7 день, при обнаружении ооцист эймерий и изоспор лечение повторяют тем же препаратом или назначают

другой кокцидиостатик (кокцидиовит, кокцидиомицин, салиномицин, фуразолидон), согласно инструкций.

- Для дегельминтизации и обработки животных против арахноэнтомозов (ктеноцефалидоза, отодектоза, саркоптоза), рекомендуется применять препараты системного действия – «Иверсан» и «Эпримек»:

- «Эпримек» песцам и лисицам назначают в дозе 0,2 мл на 10 кг массы тела животного (200 мкг действующего вещества на 1 кг массы тела) внутримышечно или подкожно, однократно;

- «Иверсан» песцам и лисицам задается перорально с кормом или водой из расчета 0,05 мл препарата на 10 кг массы животного (200 мкг действующего вещества на 1 кг веса животного), однократно. Для этого 0,5 мл препарата «Иверсан» растворяют в 4,5 мл воды, полученный раствор дозируют из расчета 0,5 мл на 10 кг массы тела животного. Для обработки против отодектоза и саркоптоза этот же препарат задается перорально в тех же дозах по схеме: 1 раз в три дня в течение 21 дня, а афаниптероз двукратно с интервалом 14 дней.

- Для дегельминтизации песцов и лисиц препаратами выбора могут быть «Фебтал гранулы» в дозе 1,0 г/15 кг по ДВ, «Альбен гранулы» в дозе 1,0 г/10 кг по ДВ, применяемые однократно.

- Против арахноэнтомозов, помимо системных препаратов, рекомендуется обрабатывать животных, а также домики и землю под шедами инсектоакарицидными средствами на основе фенилпиразолов и синтетических пиретроидов при помощи распылителей:

- «Бутокс 50» – эмульгирующий концентрат, который содержит синтетический пиретроид в концентрации 5% дельтаметрина, для опрыскивания следует растворить 50 мл препарата в 100 л воды, из расчета 100 л на 1000 м<sup>2</sup>.

- «Флайблок поверхность» в качестве активного вещества содержит фипронил в концентрации – 0,05%, одного флакона объемом 500 мл, достаточно, чтобы



обработать 40 м<sup>2</sup> площади. Обработку следует повторять с интервалом 12-14 дней;

- «Перол-А» в качестве активного вещества содержит синтетический пиретроид Перметрин 0,9%, одного флакона объемом 500 мл, хватает чтобы обработать 40 м<sup>2</sup> площади. Обработку следует повторять с интервалом 12-14 дней;

- Для обработки шедов от насекомых также можно использовать препараты – «Квик Байт ВГ 10» ДВ (имидаклоприд), средство для борьбы с личинками мух «Ларва клин», «Непорекс 2SG» и «Магготс GR 2%» ДВ (циромазин) согласно инструкциям к этим препаратам.

- Для полноценной борьбы с паразитарной инвазией в звероводческих хозяйствах необходимо неукоснительно соблюдать ветеринарно-санитарные мероприятия.

#### **2.2.16.4 Девастация и дезинвазия звероводческих объектов**

Среди ветеринарно-санитарных мероприятий, осуществляемых с целью предупреждения заразных болезней и борьбы с ними, важное место занимает дезинфекция. Дезинфекция – это комплекс мер, направленных на уничтожение патогенных микроорганизмов в окружающей среде. Дезинфекцию разделяют на профилактическую, текущую и заключительную.

Цель профилактической дезинфекции – уничтожение патогенных микроорганизмов, выделяемых животными-бактерионосителями или занесенных животными из других хозяйств. Такая дезинфекция проводится один раз в год.

Текущая дезинфекция необходима при возникновении заболеваний зверей, чтобы не допустить распространения инфекции и заражения других животных.

Заключительную дезинфекцию делают после ликвидации болезни.

Дезинфекции должна предшествовать тщательная механическая очистка объектов, что намного повышает активность дезинфицирующих

средств. Очищают и моют домики, клетки, кормовые дощечки, поилки, поддоны, помещения и кормоперерабатывающие машины зверокухни горячей водой, лучше с добавлением 0,5-5%-й кальцинированной соды или едкого натра. Текущую механическую очистку проводят периодически по мере загрязнения объектов, летом чаще, чем зимой. Генеральная очистка делается два раза в год – перед щенением и перед отсадкой щенков. Помещение зверокухни, кормоперерабатывающие машины моют каждый раз после приготовления пищи.

Существуют физические и химические средства дезинфекции. В качестве физических средств используют кипячение, водяной пар, огонь паяльной лампы, инсоляцию. Кипячением дезинфицируют одежду, медицинские инструменты. Пароформалиновые камеры (формалиновые пары) служат для уничтожения возбудителей болезней в домиках, на спецодежде и инвентаре.

Дезинвазию клеток, домиков, шедов и территории звероферм проводят с целью уничтожения ооцист эймериид, яиц и личинок гельминтов в окружающей среде.

Профилактическую дезинвазию сочетают с профилактической декокцидизацией и дегельминтизацией в плановом порядке применительно к технологии содержания пушных зверей.

Текущую дезинвазию объектов окружающей среды проводят через 3-5 дней после обработки животных.

После выздоровления, гибели или вывода всех зверей (перевод их в другие шеды, на продажу или на убой) осуществляется заключительная дезинвазия.

Дезинвазии должны предшествовать механическая очистка домиков и клеток, уборка навоза, остатков корма и т.д. Механическую очистку и мытье домиков, выгулов, поддонов, гнезд, кормовых дощечек, поилок и других объектов проводят установками (аппаратами) высокого давления с использованием горячей воды с добавлением 0,5-5%-го натрия карбоната или

0,5%-го натрия гидроокиси. На 1 м<sup>2</sup> площади при каждом орошении расходуют не менее 0,5 л раствора. После механической очистки и последующей мойки, поверхности объектов должны просохнуть, т.к. избыточная влага снижает концентрацию дезраствора.

Для дезинвазии шедов, клеток, кормовых дощечек и других объектов применяют открытый огонь паяльной лампы или газовой горелки, при этом обязательно соблюдение противопожарной безопасности. Применяют также горячие 3-4% растворы едкого натра, 3% (по АДВ) глютарового альдегида, после дезинвазии обработанные предметы промывают водой.

Для дезинвазии почвы в местах содержания и дегельминтизации собак (около домиков, клеток) применяют хлорную известь в растворе, содержащем 2,7% активного хлора 2 л/м<sup>2</sup>, при экспозиции 24 ч, 4-5%-й горячий (70-80°C) раствор натрия гидроокиси 1 л/м<sup>2</sup>, 4-6%-й раствор горячего дезонола 0,5 л/м<sup>2</sup>, 10%-й раствор однохлористого йода 1 л/м<sup>2</sup>.

Навоз от животных с ооцистами эймериид и яйцами гельминтов подлежит обеззараживанию биотермическим способом в порядке, предусмотренном действующей инструкцией по проведению ветеринарной дезинфекции, дезинвазии, дезинсекции и дератизации.

Контроль качества дезинвазии шедов, почвы в шедах, пробы навоза исследуют на наличие инвазионных ооцист эймериид и яиц гельминтов. Пробы соскобов (10-15 шт.) берут через 3 ч после дезинвазии с различных мест домиков, выгулов, кормовых столиков, проходов и т.д.; пробы почвы (10-15 шт. массой 50-100 г каждая) берут спустя 5 суток конвертным способом в местах расположения выгулов.

Эффективность дезинвазии звероводческих объектов считают удовлетворительной, если в пробах не обнаружены жизнеспособные ооцисты эймериид, яйца и личинки гельминтов.

**Выводы.** Основной принцип борьбы с инвазионными болезнями заключается в нарушении биологической цепи (цикла развития паразитов)

возбудителей активным вмешательством человека с целью полного уничтожения отдельных звеньев или разобщения их.

Успех борьбы с инвазионными болезнями может быть достигнут при проведении комплекса мероприятий, при этом важно принимать во внимание ряд факторов: вид животного, возраст, сезон года, климатические, географические и т.д. в зависимости от конкретных местных условий, удельный вес отдельных звеньев девастационного комплекса будет различным. Поэтому важно при составлении лечебно-профилактических мероприятий опираться на научные исследования, проведенные на определенных видах животных в условиях конкретного региона. Не менее важным в нашей работе было установление источников и факторов передачи инвазионного начала у пушных зверей, все это учитывалось при организации лечебно-профилактических мероприятий.

Как показал наш опыт борьбы с инвазионными болезнями пушных зверей в условиях Северо-Западного региона, при которых применялась комплексная терапия против протозоозов, гельминтозов, арахноэнтомозов, а затем регулярно осуществлялись профилактические мероприятия, которые проводились с учетом местных эпизоотологических и эпидемиологических особенностей, достигнуты значительные успехи в снижении, а в ряде мест и полной ликвидации этих инвазий. Примером может служить практически полное оздоровление предприятия, располагающегося в Ленинградской области, д. Пехенец «Зверохозяйство Лужское». Проведенный комплекс мероприятий по борьбе эймериидозами позволил полностью избавиться взрослое поголовье норок от данной инвазии, а у молодняка сократить ее до минимума за все годы наблюдения.

### 3 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящее время в мире у норок (*Neovison vison*) зарегистрировано и описано десять видов эймериид – 3 вида изоспор: *I. laidlawi*, *I. evermanni*, *I. bigemina* и 7 видов эймерий: *E. vison*, *E. furonis*, *E. mustelae*, *E. ictidea*, *E. melis*, *E. hierpei*; хотя некоторыми исследователями данное количество видов оспаривается [38, 153, 170, 348].

Полученные нами данные говорят о том, что у норок на территории Северо-Западного региона в обследованных нами зверохозяйствах встречаются два вида эймерий – *E. vison* и *E. furonis* и два вида изоспор – *I. laidlawi* и *I. evermanni*. Последний вид был обнаружен нами впервые в одном из зверохозяйств Калининградской области у животных, доставленных из Ставропольского края РФ, до этого данный вид в обследуемом регионе не регистрировался.

Вид *I. evermanni* был описан Сванбаевым С.К., в Казахстане, когда при обследовании норок, разводимых в неволе, им было обнаружено 4 вида кокцидий, три ранее известных: *E. vison*, *E. furonis*, *I. laidlawi*, а один – *I. evermanni* (Svanbaev, 1956) был описан ученым впервые [152, 188]. Позднее, Герасимчик В.А. (2008), впервые зарегистрировал данный вид в трех зверохозяйствах на территории Беларуси. Автор в своей работе сравнивает паразитофауну норок в республике Карелия, Казахстане и Беларуси указывает на то, что этот вид не способен длительное время сохраняться на территории Северо-Западного региона РФ во внешней среде из-за сурового климата [37]. Тем не менее мы считаем, что в условиях изменения климата, благодаря таким теплым зимам, когда температура в течение года не опускается ниже +5°C, данный вид может стать эндемичным для данного региона.

В публикациях, особенно зарубежных, информация по изучению паразитофауны пушных зверей освещена недостаточно и противоречиво по сравнению с изучением паразитов других видов животных [12, 186, 324, 348].

В качестве примера приведем исследования фекальных масс норок на наличие кишечных простейших в трех штатах на северо-западе США,

проведенные Oldfield J.E. в 2005 г. В общей сложности им было про исследовано 290 проб, в 72-х были обнаружены ооцисты. В образцах были обнаружены три различных вида кокцидий: *E. vison*, *E. laidlawi* и *E. mustelae* [344]. По поводу определенного им вида *E. laidlawi*, скорее всего автор имел ввиду *I. laydlawi*, что легко подтверждается споруляцией ооцист. Что касается обнаруженного им вида «*E. mustelae*», то согласно данным монографии, Pellerdy L.P. (1965) виды *E. mustelae* Kingscote, 1934; non *E. mustelae* Iwanoff-Gobzem, 1934 являются младшими синонимами *E. vison* Kingscote, 1934 [349].

Вообще с определением видов эймериид норок, да и вообще куньих, имеется ряд проблем, приводящий ученых к невольным ошибкам, одной из которых является полиморфизм ооцист. В связи с этим многими исследователями существование некоторых видов эймериид норок как самостоятельных, ставится под сомнение [299, 349, 350]. Молекулярно-генетические исследования могли бы помочь с высокой степенью достоверности решить данный вопрос о таксономической самостоятельности того или иного вида эймериид.

Однако до последнего времени такие исследования на норках (*Mustela vison*) практически не проводились и носят скудный характер [350].

Проведенное нами глубокое секвенирование региона V4 гена 18S рДНК и биоинформатический анализ позволили определить ОТЕ (операционные таксономические единицы), которые оказались характерными для представителей эймериид: *E. vison*, *E. furonis*, *I. laidlawi* и *I. evermanni*. В одном из образцов обнаружена последовательность фрагмента 18S рДНК длиной 383 п.н. из пробы ооцист, определенных световой микроскопией как *E. vison*, однако молекулярно-генетический анализ показал, что у этого образца наибольшее сходство (99,48 %) с последовательностями *E. ictidea*.

Полученные нами данные согласуются с исследованиями, проведенными группой ученых Petersen H.H. et al. (2018), на 30-ти датских фермах по разведению норок. Они установили, что из 4140 обследованных животных зараженными оказалось 108 (ЭИ 2,6%). Морфологический анализ

спорулированных ооцист (n=20) позволил выявить, что данные ооцисты являются представителями рода *Eimeria*. Размеры ооцист 21,0×13,8 мкм с отношением длины к ширине (L/W) – 1,5. Филогенетический анализ последовательностей 18S рРНК (1221 п.н.) полученных образцов от трех зараженных норок показал, что *E. vison* – это тот вид, обладающий наибольшим генетическим сходством с *Eimeria sp. ex Apodemus agrarius*, впервые выделенного из полосатой полевой мыши (*A. agrarius*) в Чешской Республике. Анализ более короткой области 18S (531 п.н.) показал, что последовательности генотипа *E. vison* имеют сходство на 97,7% с другим видом *E. furonis*. Полученные от норок последовательности в локусе субъединицы I цитохрома с оксидазой (COI), не были доступны в GenBank, поэтому при филогенетическом анализе их определили, как новый вид *E. vison*, несмотря на то, что он имел на 99,4% сходство с *E. ictidea*, выделенного от черного хорька (*Mustela nigripes*) из Канады [350].

Полученные нами данные, а также датскими учеными Petersen H.H. et al. (2018) могут свидетельствовать о том, что *E. vison* и *E. ictidea*, являются одним видом, так как имеют высокое морфологическое и генетическое сходство [350]. В связи с этим один из них может считаться валидным по отношению к другому.

Тем не менее, изучение возбудителей паразитозов пушных зверей имеет важное значение, так как разные виды имеют неодинаковую патогенность, оказывают различное воздействие на организм позвоночных, обладают многообразными иммуногенными свойствами и имеют разную чувствительность к лечебно-профилактическим препаратам.

По литературным данным у песцов и лисиц клеточного содержания зарегистрировано и описано 7 видов эймериид: 5 видов изоспор – *I. canivelocis* Weidman, 1915; *I. vulpina* Nieschulz et Bos, 1933; *I. buriatica* Yakimoff et Matschoulsky, 1940; *I. truffitti* Нукербаева, Сванбаев, 1973; *I. pavlodarica* Нукербаева, Сванбаев, 1973; 2 вида эймерий – *E. mesnili* Растегаева, 1930, *E. imantauica* Иркатанова, 1966; Нукербаева, Сванбаев, 1973; Утебаева,

Салимбаева, 1987 [180], а также 11 видов гельминтов – *A. alata* Goeze, 1782, *O. felineus* Rivolta, *D. latum* Creplin, 1825; *T. hydatigena* Pallas, 1766; *M. albidus* Braun, 1893; *D. caninum* L., 1758; *Echinococcus granulosus* Batsch, 1786; *T. leonina* Linstow, 1902, Leiper, 1907; *T. canis* Werner, 1782; *U. stenocephala* Railliet, 1884; 1884 и *T. spiralis* Owen, 1835 [12, 37].

В результате проведенных нами исследований было установлено, что среди 1186 обследованных песцов (*Vulpes lagopus*) у 535 были обнаружены эндопаразиты, ЭИ составила 45,11%. Нами были выявлены следующие паразиты: 3 вида изоспор – *I. vulpina*, *I. buriatica*, *I. canivelocis* и 3 вида гельминтов: *T. leonina*, *T. canis*, *D. latum*.

У 415 обследованных лисиц (*Vulpes vulpes*) (212 животных старше одного года и 203 щенков текущего года рождения) были обнаружены паразиты у 216 животных, ЭИ составила 52,05%. Нами были выявлены следующие эндопаразиты: 3 вида изоспор – *I. vulpina*, *I. buriatica*, *I. canivelocis* и 3 вида гельминтов: *T. leonina*, *T. canis*, *Tr. vulpis*.

Для сравнения в зверохозяйствах Московской области при обследовании 489 песцов, 35 лисиц, у 147 обследованных песцов, была обнаружена *T. leonina* (ЭИ, 30,06%). У остальных зараженных животных болезнь протекала в виде микстинвазии: *C. vulpina* и *C. canivelocis* – 34 животных (6,95%) и смешанной инвазии (*T. leonina* + *C. vulpina*) – 12 животных (2,45%). Общая ЭИ у обследованных песцов из нескольких зверохозяйств составила 39,46% [63]. Отдельно хочется отметить, что по современной номенклатуре у пушных зверей родовое название возбудителя изоспороза, является – *Isospora*, среди плотоядных только у собак и кошек родовое название возбудителя – *Cystoisospora*.

Однако при обследовании животных в зверохозяйствах Ямало-Ненецкого автономного округа было установлено, что паразитофауна представлена 11 видами гельминтов, из них 4 вида нематод (*T. canis*, *T. leonina*, *U. stenocephala*, *T. spiralis*), 4 вида цестод (*D. latum*, *D. caninum*, *E. granulosus*,



*T. hydatigena*), 3 вида трематод (*O. felineus*, *M. bilis*, *A. alata*), а также 1 вид членистоногих (*O. cynotis*) [12].

Часто эндопаразитозы протекают в виде микстинвазий. Проведенные исследования показали, что на фоне микстинвазии *I. vulpina* + *T. leonina* у песцов наблюдается выраженная иммуносупрессия. При специфической терапии она не только не выправлялась, а наоборот становилась более выраженной, что говорит о том, что противопаразитарные препараты оказывают иммуносупрессивное действие на организм песцов. При протозоозах и гельминтозах образуется иммунитет, развивающийся под воздействием клеточных и гуморальных факторов, напряженность его зависит от вида возбудителя, физиологического состояния пушных зверей. Все это влияет на интенсивность эпизоотического процесса и на отдельные его звенья, что необходимо учитывать при планировании мероприятий по профилактике паразитозов и борьбе с ними.

В ходе проведенных лабораторных исследований впервые удалось выявить больных щенков среди молодняка норок, начиная с 13-ти дневного возраста. Установлено, что пик инвазии среди молодняка пришелся на двухмесячный возраст (июнь-июль месяц). В этот период количество зараженных среди щенков доходило до 30, из 50 обследованных животных, ЭИ составила 60%. Мы связываем такой подъем инвазии у молодняка, с тем, что по мере отъема щенков (на 42-43 сутки после рождения) от кормящих самок на фоне стресса, ЭИ резко повышается. Достигнув пика, инвазия постепенно начинала снижаться, так в августе ЭИ составляла 56%, а в сентябре – 50%, соответственно. В зимний период количество больных зверьков в возрасте 7-9 месяцев уменьшалось до минимума (ЭИ в феврале – 6%), т.е. снизилась в 10 раз по сравнению с июлем. Таким образом, к 7-9 мес. возрасту у норок, зараженных простейшими, образуется иммунитет, развивающийся под воздействием клеточных и гуморальных факторов, напряженность его зависит от вида возбудителя, физиологического состояния пушных зверей.

По нашим данным пик инвазии в зверохозяйствах Ленинградской области и у молодняка норок, и у взрослых животных приходился на лето (июнь-июль). В этот период ЭИ в среднем возрастала до 60%. Мы связываем такой подъем инвазии у молодняка с тем, что по мере отъема щенков (на 42-43 сутки после рождения) от кормящих самок на фоне стресса ЭИ резко повышается. Столь повышенная восприимчивость к эймериидозам у молодняка в данный период многие авторы объясняют повышенным стрессом, который испытывают зверьки при отбивке от матерей и переходом на другой корм, а также снижением иммунитета, в т.ч. кишечного [96, 156, 188, 219].

Однако в зверохозяйствах Калининградской области пик инвазии у молодняка и взрослых норок приходится на весну (май). Так, у щенков ЭИ эймериидозной инвазии составила 47,7%, а у животных из основного поголовья – 38,9%. В летние месяцы ЭИ немного снижается в обеих группах – 38,5 и 33,3%, соответственно. Это может быть связано с более мягким климатом и тем, что щенение проходит в данном регионе чуть раньше.

Тем не менее, ряд авторов указывают [4, 6, 151, 186], что в период забоя взрослых животных, который приходится на октябрь-ноябрь, данными учеными отмечался подъем степени инвазии у всех животных в обследованных ими зверохозяйствах, в связи с беспокойством животных (стрессом) и ненадлежащим уровнем ухода за животными в этот период со стороны зоотехников и ветеринарных врачей фермы. Однако в условиях проводимых нами исследований проследить данную закономерность не удалось.

По результатам проведенных нами исследований арахноэнтомозы широко распространены в звероводческих хозяйствах Северо-Западного региона РФ. Первые клинические признаки отодектоза наблюдались у песцов в конце лета, а пик инвазии приходился на середину осени. Наибольшее количество взрослых зверей поражается отодектозом с июля (63,0-82,1% у песцов и 55,4-61,5% у лисиц) по октябрь (64,3-83,3% у песцов и 61,5-87,7 у

лисиц) и их щенки с июня (42,1-47,4% у песцов и 36,1-55,5% у лисиц) по ноябрь у обоих видов у животных всех возрастов (100%).

Для сравнения в звероводческих хозяйствах Крайнего Севера арахноэнтомы, в частности отодектоз, имеют значительное распространение, и протекают, как правило, хронически, при этом степень зараженности взрослых песцов (*Alopex lagopus*) достигает 46%, молодняка – 63%, а эпизоотический процесс протекает круглогодично [132].

На сегодняшний день большинство молекулярно-генетических исследований было сосредоточено на травоядных и всеядных животных, и лишь немногие исследования были проведены на плотоядных. Кроме того, за исключением нескольких исследований на домашних кошках, предыдущие исследования, проведенные на плотоядных животных, были основаны на ограниченном количестве образцов (то есть десять или меньше).

Первое упоминание в литературе исследований, в которых применялся метод высокопроизводительного секвенирования 16S гена рРНК для характеристики желудочно-кишечной микробиоты норки было осуществлено Martin I. Bahl et al в 2017 году. «Это исследование включало только ограниченное число клинически здоровых норок, но методология представляет значительный интерес для получения новых представлений о патогенезе многих болезней в промышленном звероводстве, а также определения новых профилактических и терапевтических мероприятий» [238], тогда как наши исследования начались еще в октябре 2016 году, а закончились только в 2018 году.

В естественных условиях обитания (кишечник животного) микробы делят свою среду с аналогичным динамично развивающимся сообществом эукариот (простейших, гельминтов и грибов), многие из которых имеют очень широкое распространение. Как паразиты, так и прокариотическая микробиота могут резко изменить физический и иммунный статус или ландшафт кишечника, создавая широкие возможности для их взаимодействия. Такое взаимодействие может критически изменить исходы инфекции и повлиять на

общее состояние здоровья и протекания определенной болезни хозяина. Например, паразитарная инвазия может изменить то, как хозяин взаимодействует со своей бактериальной флорой, либо управляя, либо защищая от дисбиоза и воспалительных болезней. И наоборот, микробиота может изменить успех колонизации, размножение и вирулентность паразита. Механизмы и последствия этих взаимоотношений только начинают изучаться в возникающей трансдисциплинарной области на границе микробиологии и паразитологии.

В результате проведенных экспериментов по изучению микробиоты и оценки биоразнообразия бактериальных сообществ в пробах фекалий и кусочков кишечника норки, позволило установить, что в двух образцах 99% обилия было представлено двумя типами – Firmicutes и Bacteroidetes.

Полученные нами результаты исследования согласуются с данными, полученными Bahl et al. (2017), которые установили относительно высокое обилие как Firmicutes, так и Proteobacteria, обнаруженных в фекалиях норки, но, в отличие от работы Чжао и др., в которой более высокое общее относительное обилие протеобактерий наблюдалось в фекалиях норки, хотя последние использовали другую методику (амплификация области V3, а не V4, принятую за эталон), что может объяснить, по крайней мере, частично отсутствие согласия между исследованиями [237, 238, 391].

Лактобациллы, к которым относится род *Lactobacillus*, состоят в основном из группы аэротолерантных анаэробных бактерий, продуцирующих молочную кислоту в качестве конечного продукта углеводного брожения. Это неожиданное открытие, так как предыдущие исследования, характеризующие фекальную микробиоту кошек и свиней, обнаружили значительно более низкое относительное обилие и общее количество молочнокислых бактерий, соответственно, а также значительное, возрастное снижение этих бактерий. Результаты последнего исследования контрастируют с данными Fraser et al. (2017), которые обнаружили значительное увеличение относительной численности молочнокислых бактерий в период от кормления до отъема [289].

В исследовании Compo N.R. (2018), несмотря на то, что детеныши после отъема имели более высокую общую долю лактобацилл, чем взрослые самки, эта разница не была существенной. Интересно, что в то время, как относительное обилие лактобацилл не было существенно различно между группами, специфические микроорганизмы родов *Lactococcus* и *Lactobacillus* были в бóльшем количестве у отъемышей, чем у взрослых самок [261].

Субботин В.В., Данилевская Н.В. (2002), изучая индигенную микрофлору кишечника взрослых собак классическими методами пришли к следующему результату: на первом месте, по их данным, у животных в фекалиях содержатся бифидобактерии (59,15%), лактобактерии – на втором месте (16,89%), далее идут энтерококки (12,39%), энтеробактерии (11,55%), прочие микроорганизмы (0,02%) [200]. Мы видим, что культуральный метод не позволяет установить всю широту и разнообразие видов микроорганизмов, встречающихся в желудочно-кишечном тракте у собак

Иностранные исследователи Suchodolski J., Simpson K. (2013), проводя молекулярно-филогенетический анализ бактериальной рРНК гена 16S у 5 собак установили, что около 99% всего микробиоценоза кишечника у собак составляют бактериальные типы Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria. По их данным в толстой кишке доминируют Clostridiales, Bacteroides, Prevotella, Fusobacteria, Bacteroidetes и Actinobacteria (виды *Bifidobacterium*), которые считаются важным источником таких метаболитов как, незаменимые жирные кислоты и благоприятно воздействуют на организм животного [369].

Микробиота играет важную роль в питательных, иммунологических и физиологических процессах хозяина. Традиционные методы культивирования показали, что плотность бактерий колеблется в диапазоне  $10^4$ - $10^5$  (КОЕ)/г в желудке,  $10^5$ - $10^7$  КОЕ/г в тонкой кишке и от  $10^9$  до  $10^{11}$  КОЕ/г в толстой кишке здоровых собак. Поскольку крайне небольшое количество видов бактерий можно выращивать и изучать классическими культуральными методами, в последние годы технология секвенирования ДНК и биоинформатика пришли

на помощь исследователям и позволили улучшить филогенетическую и функционально-метаболическую характеристику микробиома кишечника собаки. Преобладающие типы включают Firmicutes, Bacteroidetes, Fusobacteria, Proteobacteria и Actinobacteria. Исследования с использованием секвенирования гена рибосомной РНК (рРНК) 16S показали, что микробиота внутри разных отделов желудочно-кишечного тракта и микрофлора в фекалиях, резко отличается, при этом следует отметить, что она также зависит от состояния самого организма, что необходимо учитывать при дальнейшем изучении данного вопроса.

Полученные авторами результаты, описанные выше, схожи с нашими данными, за небольшим исключением.

Во всех исследуемых нами образцах фекалий собак были зафиксированы полезные целлюлозолитические бактерии, обладающие способностью расщеплять углеводы кормов. Наибольшее содержание бактерий семейства Ruminococcaceae составляло от 0,4 до 3,87%, бактерий семейства Lachnospiraceae – от 0 до 1,24%, бактерий семейства Eubacteriaceae – от 0 до 1,21%. Наряду с высоким содержанием в фекалиях собак полезных лактобактерий семейства Lactobacillaceae и бацилл семейства Bacillaceae, практически не было зафиксировано бифидобактерий. В фекалиях всех собак был выявлен ряд патогенных бактерий – клостридий семейства Clostridiaceae, бактериоидов филы Bacteroidetes (родов *Bacteroides*, *Flavobacterium*, *Flexibacter*, *Cellulophaga*, *Prevotella*), актинобактерии филы Actinobacteria, энтеробактерии семейства Enterobacteriaceae и кампилобактерии (рода *Helicobacter*).

Помимо микрофлоры, гематологические показатели также являются важным критерием, по которому возможно оценить степень патогенного воздействия паразитов на организм, помимо этого эти изменения в крови характеризуют тяжесть течения и дает возможность проводить прогноз исхода болезни [6, 26, 29, 124, 365].

Так, морфологический состав крови, по нашим данным, у клинически здоровых и больных норок отличался. Уровень гемоглобина снижался со  $170 \pm 5,5$  до  $147 \pm 4,8$  г/л ( $P \leq 0,05$ ), также количество эритроцитов у больных эймериидозами норок снижалось с  $8,9 \pm 0,6$  ( $P \leq 0,05$ ) до  $6,4 \pm 0,4 \times 10^{12}$ /л; однако, мы наблюдали достоверное увеличение количества лейкоцитов с  $5,4 \pm 0,4$  до  $7,8 \pm 0,3 \times 10^9$ /л ( $P \leq 0,05$ ), соответственно.

По данным Герасимчика В.А. (2008) при проведении исследования по экспериментальному заражению норок ооцистами *I. laidlawi* ( $6000 \pm 320$ ) и ( $12000 \pm 460$ ), у животных изменился морфологический состав крови: гемоглобинемия (на 27,3 и 34,8%), гипоглобулия (на 32,2 и 37,9%), лейкоцитоз (на 22,1 и 28,8%), эозинофилия (на 64,8% и 70,1%), лимфопения (на 16,1 и 21,6%) и нейтрофилия со сдвигом влево ( $P \leq 0,05$ ) [37].

Таким образом, по данным ряда авторов [24, 28, 85, 143, 214, 232], при эймериидозах наблюдаются серьезные изменения показателей крови как морфологических, так и биохимических.

У больных эймериидозами норок мы отмечали протеинемию, показатель общего белка составлял –  $64,7 \pm 2,14$  г/л, что на 13,1% меньше, чем в контрольной группе ( $P \leq 0,05$ ). Показатели небелковых азотистых оснований крови – билирубина, мочевины и креатинина в крови у больных и клинически здоровых животных также отличались. Содержание общего билирубина и креатинина у зараженных животных повышалось на 33,83% и 31,9%, что соответствовало  $10,7 \pm 0,9$  и  $70,2 \pm 2,41$  ( $P \leq 0,05$ ). При этом уровень мочевины у больных эймериидозами животных снижался с  $6,18 \pm 1,13$  до  $4,87 \pm 0,36$  ммоль/л, что составило 21,19%.

При экспериментальном же изоспорозе норок Герасимчик В.А. (2008) установил, что болезнь приводила к диспротеинемии, что отчетливо проявлялось в динамике альбуминов, которые достоверно снизились в 1,6 раза на 12-е сутки [37]. По его данным подобная динамика регистрировалась ранее и другими авторами [146, 214, 232] при эймериидозах у разных видов

животных. Им же установлено снижение уровня мочевины и повышение креатинина у зараженных животных.

В ходе проведенных нами исследований разработана эффективная схема лечения норок при кокцидиозах и изучено влияние препаратов на естественную резистентность. Установлено, что противокочидийная обработка норок препаратами «Стоп-кокцид» и «Эймерм 5%» способствовала повышению фагоцитарной, лизоцимной и бактерицидной активности сыворотки крови (группа 3 и 4). На 10-й день после обработки данный показатель у животных в обеих группах был одинаков и колебался в пределах 49,8% по бактерицидной активности. Эти показатели уступали фоновому показателю (здоровые животные) на 12,32%. В дальнейшем этот показатель повышался. Максимальный уровень показателей неспецифического иммунитета сыворотки крови норок двух групп был зарегистрирован на 30-й день эксперимента. В 3-ей группе он превысил фоновое значение на 29,9%, но уступал здоровым контрольным норкам на 0,7%. В 4-ой группе он превысил фоновый показатель 26,5%, а по отношению к фоновому показателю здоровых животных превышал его на 0,88%. Наилучшие результаты по лизоциму получены в сыворотке крови норок 5-й и 6-й групп, которым после обработки кокцидиостатиками вводили иммуномодулятор растительного происхождения «Фитодок-иммуностим». В этих группах активность лизоцима составляла к концу эксперимента  $8,4 \pm 0,7$ - $9,1 \pm 0,9\%$ , против  $8,6 \pm 0,9\%$  у здоровых норок и  $6,4 \pm 0,2\%$  у зараженных. Полученные нами данные подтверждаются работами ряда авторов [25, 136].

Фагоцитоз является чувствительным индикатором защитных реакций организма. Именно он выполняет существенную роль в создании антимикробной устойчивости организма, в частности известно участие фагоцитов в воспалении кишечника. В ходе проведения нами экспериментов четко отмечалась достоверная связь между нарушениями в составе нормальной микрофлоры и активностью фагоцитоза, которая проявлялась в усилении фагоцитарной активности клеток при развитии дисбиоза.



Многие паразитические простейшие живут в просвете в течение длительного периода, не причиняя заметного вреда. Патогенез обычно включает в себя прикрепление к эпителию и иногда инвазию в него, вызывая воспалительные иммунные реакции. Эти процессы, связаны скорее со строением самого паразита, а также с его вирулентностью: простейшие способны проходить через эпителиальный барьер, еще более стимулируя воспалительные процессы.

Многие паразиты стимулируют повышенную выработку слизи посредством иммунного ответа Т-хелперов 2-го типа (Th2), при котором интерлейкин (IL) -13 и IL-22 – цитокины, участвующие в регуляции воспалительных реакций кишечника посредством индукции антимикробных пептидов и усиления регенерации эпителия и заживления ран, управляют пролиферацией и гиперплазией бокаловых клеток [250]. Это является иммунным ответом макроорганизма, который пытается избавиться от паразита [302, 377].

По данным ряда авторов структурные изменения в муцине (гликопротеине, который составляет основу слизи) особенно часто отмечаются при одновременном паразитировании нескольких видов простейших [301, 375].

В то же время вызывающие диарею кишечные простейшие также влияют на этиологию недоедания и потери веса, что негативно сказывается на продуктивности животных. Например, у пушных зверей, которые отстают в размерах от животных, свободных от простейших на 20-25%. Постоянная диарея, вызванная простейшими, является важным фактором риска задержки роста [259]. Кишечная дисфункция, характеризующаяся атрофией ворсинок и хроническим воспалением, является признаком недоедания, причиной которого, как считается, является повторная кишечная инфекция, связанная наложением вторичной патогенной микрофлоры при паразитировании простейшими [380].

Поиск близких по тематике исследований в литературе, позволил заключить, что многие ученые занимаются подобными исследованиями. Так, изучена динамика *Toxocara canis* под влиянием *Enterococcus faecalis* в организме мышей [364]; получены первичные данные по изучению воздействия *Eimeria falciformis* на кишечную микробиоту и метаболические пути у животных [306]; опубликованы результаты комплексной оценки механизмов взаимодействия паразитов и микробиоты кишечника позвоночных [323]; описано воздействие гельминтозной инфекции животных на особенности течения идиопатической хронической диареи посредством изменения микробиоты слизистой оболочки толстой кишки [250].

Более глубокое понимание взаимодействий паразита и микробиоты также будет иметь важное значение для прогнозирования течения болезни и последствий для здоровья при применении конкретных препаратов против паразитов и антибиотиков. Экспериментальные исследования, проведенные за последние 5 лет, показывают, что лечение антигельминтиками может изменить восприимчивость хозяина к другим бактериальным инфекциям и протозойным инвазиям потенциально путем устранения иммуномодулирующего воздействия гельминтов или конкурентных взаимодействий с другими видами [237, 314]. Точно также, дача антигельминтиков против паразитов может оказывать опосредованное воздействие на микробиоту кишечника, но такие исследования только начинают появляться.

Вопросы терапии и проведение лечебно-профилактических мероприятий инвазионных болезней пушных зверей до сих пор остаются недостаточно изученными. Мало этого, новые лекарственные препараты для этой группы животных регистрируются гораздо реже, чем для других видов. В связи с этим, нами были апробированы препараты разных фармакологических групп: кокцидиостатики, системные антигельминтики, антиоксидантный и антимикробный препарат.

Эффективность противопаразитарных средств оценивали по уменьшению ИИ и улучшению клинического состояния животных.

Наибольшую ЭЭ показали два препарата – «Стоп-кокцид» и «Эйметерм суспензия 5%». Так, при изоспорозе после обработки препаратом «Стоп-кокцид» на 10-й день этот показатель составил 96,42%, а при эймериозе – 100%, «Эйметерм суспензия 5%» – 98,09 и 100%, соответственно. Стоимость обработки одного животного этими препаратами составит – 2,55 и 2,49Р, препарат задавался двукратно, поэтому стоимость обработки одного животного на курс 5,1 и 4,98Р, соответственно.

«Метронидазол» оказался наименее эффективным из испытываемых препаратов, тем не менее обработка им оказалась одной из доступных: стоимость одной обработки 0,625Р.

Самым доступным из испытанных нами кокцидиостатиков оказался препарат «Кокцисан» (КРКА), который мы рекомендуем курсами не менее 4-рех раз в год в качестве профилактики эймериидозов норок в звероводческих хозяйствах. Стоимость обработки одного животного составляет 0,048 Р.

Однако в качестве лечения следует применять более эффективные, но и более дорогостоящие препараты «Стоп-кокцид» и «Эйметерм», рекомендованные для промышленного звероводства. Помимо этого, проведенные нами исследования показывают, что применение иммуномодулятора растительного происхождения «Фитодок-иммуностим» на фоне обработки животных больных эймериидозами способствует более быстрому восстановлению организма норок и улучшения иммунного статуса животных.

Для борьбы с нематодами песцов и лисиц были проведены клинические исследования системных антигельминтиков «Эпримек» и «Иверсан». В результате было установлено, что данные препараты имеют высокую противопаразитарную эффективность против различных видов гельминтов, арахнозов и энтомозов. Эффективность препарата «Эпримек» против токсокароза, токсоаскариоза песцов и лисиц в дозе 0,2 мл на 10 кг (200 мкг на 1

кг веса животного по ДВ) внутримышечно, однократно, у песцов составила 93,3-96,6%, а у лисиц 90,0-95,0%. Эффективность препарата «Эпримек» в данной дозе против отодектоза и афаниптероза составила 100%.

Совместно с компанией ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита» был разработан препарат «Иверсан», который после доклинических исследований был испытан на 120 песцах в возрасте от 1,5 до 2 лет. Обработку животных препаратом «Иверсан» проводили перорально, однократно в дозе 0,05мл препарата на 10 кг массы животного (из расчета 200 мкг действующего вещества на 1 кг веса животного), в качестве контроля использовали препарат «Эпримек» согласно терапевтическим дозам, установленными нами ранее. Противопаразитарная эффективность препаратов в ходе эксперимента не имела существенных отличий.

В связи с этим для сравнения экономической эффективности достаточно произвести сравнение затрат на ветеринарные мероприятия. Стоимость обработки препаратом «Иверсан» в 7,5 раз экономически выгоднее, чем при использовании препарата «Эпримек». По результатам проведенных нами, а также другими учеными исследований был получен приоритет разработки «Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных» подтвержден патентом на изобретение № 2568906 зарег. В Гос. реестре изобретений РФ 23 октября 2015 г. (см. ПРИЛОЖЕНИЕ В).

Кроме апробации перечисленных препаратов на пушных зверях, были проведены доклинические испытания препаратов разных фармакологических групп: кокцидиостатики – «Стоп-кокцид»; антигельминтика – «Эпримек»; антиоксидантного препарата – «Эмидонол 10%».

Исследования на биоэквивалентность показали, что препараты «Стоп-кокцид» производства ООО НПО «Апи-сан» (Россия), «Эйметерм 5%» в виде суспензии производства ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита» (Россия), «Ваусох 5%» компании «Bayer Health Care AG» (Германия), согласно гигиенической классификации ГОСТ 12.1.007-76, в соответствии с установленными параметрами, относятся к 4-му классу опасности – вещества

малоопасные. Все исследуемые препараты в дозах от 250-1500 мг по ДВ/кг массы животного не приводили к гибели подопытных животных. Величина, характеризующая вариабельность смертельных доз, свидетельствует о незначительной опасности развития острого смертельного отравления препаратом в условиях однократного введения в желудок.

В результате доклинических испытаний антигельминтика системного действия «Эпримек», было установлено, что ЛД<sub>50</sub> препарата «Эпримек» при внутримышечном введении составила –  $4,0 \pm 0,13$  г/кг массы тела. Согласно классификации (ГОСТ 12.1.007-76), препарат – умеренно токсичен при внутримышечном введении.

При проведении доклинических испытаний антиоксидантного препарата – «Эмидонол 10%», было установлено, что данный препарат при внутрижелудочном введении максимальной дозы 10,5 г/кг не вызывает гибели крыс. Согласно классификации (ГОСТ 12.1.007-76), препарат – малоопасное соединение (4-й класс опасности). Однако при внутрибрюшинном введении Эмидонола 10% крысам ЛД<sub>50</sub> составила 2,5 г/кг, что согласно ГОСТ 12.1.007-76 позволяет отнести препарат к 3 классу опасности.

Полученные новые данные о доклинических исследованиях легли в основу изменений в инструкции по применению данных препаратов, а также были использованы для регистрации их в Россельхознадзоре.

Таким образом, выполненные исследования послужили основанием для формулирования следующих 15 пунктов заключения.

## 4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов проведенных исследований были сделаны следующие выводы:

1) В зверохозяйствах Северо-Западного региона РФ у 43,92% норок (*Neovison vison*) установлено четыре вида эймериид, два вида эймерий – *E. vison* и *E. furonis* и два – изоспор – *I. laidlawi* и *I. eversmanni*, последний из которых зарегистрирован в Калининградской области впервые. У 45,11% песцов (*Vulpes lagopus*) были выявлены 3 вида изоспор – *I. vulpina*, *I. buriatica*, *I. canivelocis* и 3 вида гельминтов – *T. leonina*, *T. canis*, *D. latum*. У 52,05% лисиц (*Vulpes vulpes*), регистрировались следующие эндопаразиты: 3 вида изоспор – *I. vulpina*, *I. buriatica*, *I. canivelocis* и 3 вида гельминтов – *T. leonina*, *T. canis*, *Tr. vulpis*. Также у 34,16% норок диагностирован ктеноцефалидоз. Экстенсивность инвазии отодектозом, варьировалась в течение года в пределах: среди песцов 63,0-100% и 55,4-100% лисиц. В зверохозяйствах Ленинградской области у песцов спорадически регистрируется саркоптоз, вызванный *Sarcoptes s. var. canis*.

2) Эймериидозы норок в Северо-Западном регионе чаще протекают в виде моноинвазий (37,2%), микстинвазия двух паразитов встречалась в 6,15%, а микстинвазия тремя простейшими зарегистрирована лишь в 0,57% случаев. Самым распространенным, среди моноинвазий, видом эймериид в большинстве звероводческих хозяйствах оказался вид – *I. laidlawi*. ЭИ этим паразитом составила 22,16% от числа обследованных зверей в регионе. На втором месте по встречаемости стоит вид *E. vison* (14,2%), при этом изоспоры встречаются на 7,2% чаще чем эймерии. Вид *E. furonis* был обнаружен в двух звероводческих хозяйствах, одно располагается в Ленинградской, другое – в Калининградской области, ЭИ составила 0,78%. Изоспороз, вызванный *I. eversmanni* (ЭИ – 0,05%), зарегистрирован нами лишь в одном зверохозяйстве на территории Калининградской области.

Среди взрослых песцов преобладающим видом эндопаразитов, является *I. vulpina* (29,41%). На втором месте по встречаемости среди зараженных животных стоит *T. leonina* (20,32%), далее следуют *T. canis* (11,76%), *D. latum* (10,7%), *I. buriatica* (10,16%). Паразитозы песцов протекают как правило в виде моноинвазий (37,94%), на микстинвазию двумя паразитами 76 (6,41%), а на полиинвазию тремя паразитами 9 (0,76%).

Среди лисиц моноинвазия протекала у 174 (41,93%), на микстинвазию двумя паразитами приходилось 35 (8,43%), а на полиинвазию тремя паразитами 7 (1,69%), соответственно. Наиболее распространенным видом эймериид среди моноинвазий простейшими у лисиц является *I. vulpina*, обнаруженный у 71,43% взрослых (5 животных), и 57,9% (44 молодых лисиц). На втором месте по встречаемости стоит *I. buriatica*, который встречался у 32,89% молодых животных и у 28,57% взрослых, и реже всего встречался *I. canivelocis*, который был отмечен всего лишь у 7 молодых лисиц, а у взрослых данный вид не был регистриван.

3) Проведенный молекулярно-генетический и филогенетический анализ последовательностей 18S рДНК содержимого тонкого кишечника, позволил уточнить таксономическую принадлежность эймериид спонтанно зараженных норок. Удалось выделить из образцов кишечника ДНК, возбудителей – *I. laidlawi*, *E. furonis*, *I. laidlawi* и *I. evermanni*.

4) Мониторингом эпизоотической ситуации в зверохозяйствах Северо-Западного региона, выявлен эймериидоз – вызванный *I. laidlawi*, который впервые был обнаружен у молодняка норок 13 дневного возраста. В Ленинградской области пик инвазии среди молодняка норок приходится на двух месячный возраст (июнь-июль), ЭИ составляла – 50,7%, а у взрослых – 43,3%, в то время как в зверохозяйствах Калининградской области у молодняка и у взрослых норок пик инвазии приходится на весну (май месяц), так у щенков ЭИ эймериидозной инвазии в этот период составила 47,7%, а у животных из основного поголовья 38,9%. В летние месяцы ЭИ снижается в обеих группах 38,5 и 33,3%, соответственно. Осенью и зимой ЭИ у животных

из Калининградской области снижалась также, как и в Ленинградской области. В зимний период ЭИ у норок в зверохозяйствах Ленинградской области была выше среди взрослого поголовья 15,8% против 12,7% у молодняка, а в Калининградской области ЭИ молодняка (16,9%) была выше, чем у взрослых (13,9%), это наблюдалось не только в зимние месяцы, но и в течение всего года.

5) У взрослых норок выявлена обратно-пропорциональная зависимость, чем ЭИ была выше, тем ИИ в этот же период была ниже. В летнюю декаду ИИ у самок снижалась до 2-58 ооцист в одной пробе, у самцов до 1-10 ооцист. В осенне-зимнее время ИИ наоборот возрастала у самок, до 480 ооцист в одной пробе, а у самцов до 240 шт. в пробе. Весной данный показатель у самок снижался до уровня 1-180, а у самцов до 1-12 ооцист в одной пробе. У молодняка норок ИИ сохранялась высокой не зависимо от ЭИ и доходила до 280 ооцист в одной пробе.

6) Ретроспективным анализом эпизоотической ситуации за период с 2009 по 2018 г. установлено, что динамика ЭИ в данном регионе, связана с погодными условиями. Так, пики эймериидозной инвазии совпадали с наиболее теплыми зимами, а также в года с теплым и влажным летом и теплой осенью, с большим количеством осадков (апрель-июнь, октябрь-ноябрь).

7) Источниками инвазии в зверохозяйствах являются зараженные животные, а наиболее вероятными факторами распространения, являются объекты окружающей среды. Наибольшее количество ооцист обнаружено в пробах почвы (собранных из-под шедов), в смывах и соскобах с инвентаря, (100%). Высокая степень загрязнения была в пробах с полов домиков (45,7%), с кормушек и с сетки выгульной площадки – 37,1 и 37,5%, соответственно.

8) У норок в возрасте от 1,5 до 6 месяцев установлено преимущественно острое и подострое течение эймериоза и изоспороза, а у животных старше полугода – подострое, хроническое и латентное течение болезни. Патогенное воздействие эймериидозов проявляется изменением показателей крови больных животных, уровень гемоглобина снижается в



среднем на 13,5%, эритроцитов – на 28%, увеличивается количество лейкоцитов на 44%. В ходе всего эксперимента у больных норок наблюдалась эозинофилия, лимфопения и сегментоядерная нейтрофилия. Также отмечалась протеинемия, данный показатель общего белка снижался на 13,1%, увеличивалось содержание общего билирубина и креатинина у больных норок на 33,83% и 31,9%, соответственно.

9) При гистологическом исследовании установлено, что заражение кокцидиями как в виде моноинвазии, так и при ассоциациях паразитов, даже при низкой степени инвазии сопровождается нарушением целостности слизистой оболочки кишечника, наблюдается разрушение эпителиальных клеток и атрофия ворсинок. При высокой ИИ в процесс полиморфной клеточной инфильтрации вовлекается собственная пластина слизистой оболочки кишечника.

10) Проведенные молекулярно-генетические исследования микробиоценоза клинически здоровых норок и на фоне кокцидиозов, было установлено, что каждое отдельно взятое животное имеет собственную уникальную и стабильную микробную экосистему, представленную доминантной аутохтонной, субдоминантной и транзиторной микрофлорой. Однако у норок больных эймериидозами обнаружено 343 различных бактериальных ОТЕ, относящихся к 13 типам, 26 классам, 51 порядку, 106 семействам и 172 родам.

Межвидовое отличие микробиома клинически здоровых норок, касается снижения разнообразия среди представителей *Bacteroidetes* (3 семейства), *Actinobacteria* – 6 семейств; и увеличения количества семейств типа *Proteobacteria* (с 3 до 7). Также в составе микробиома кишечника норок установлено присутствие *Acidobacteria* и *Fusobacteria*;

Заражение эймериидозом сопровождается таксономическим сдвигом в микробиоме кишечника: увеличением доли *Bacteroidetes*, *Micrococcales*, *Enterobacteriaceae* и появлением несвойственных здоровому организму представителей типа *Coprothermobacterota* и видов рода *Neisseria*.

11) Доклиническими испытаниями антигельминтика «Эпримек», было установлено, что ЛД<sub>50</sub> препарата «Эпримек» при внутримышечном введении составила – 4,0±0,13 г/кг массы тела. Согласно классификации (ГОСТ 12.1.007-76), препарат – умеренно токсичен при внутримышечном введении. При проведении доклинических испытаний антиоксидантного препарата – «Эмидонол 10%», было установлено, что данный препарат при внутрижелудочном введении максимальной дозы 10,5 г/кг не вызывает гибели крыс. Согласно классификации (ГОСТ 12.1.007-76), препарат – малоопасное соединение (4-й класс опасности). Однако при внутрибрюшинном введении Эмидонола 10% крысам ЛД<sub>50</sub> составила 2,5 г/кг, что согласно ГОСТ 12.1.007-76 позволяет отнести препарат к 3 классу опасности.

12) При эймериидозах пушных зверей препаратами выбора, являются «Стоп-кокцид» и «Эйметерм 5%». Препараты применяли на норках в дозе 0,4 мл на 1 кг массы тела животного (20 мг/кг по ДВ), двукратно. Эффективность «Стоп-кокцид» при изоспорозе на 10-й день составила – 96,42%, а при эймериозе – 100%. ЭЭ препарата «Эйметерм 5%» на 3-й день составила 98,75%, на 7 и 14 день – 100%.

Эффективность препаратов «Стоп-кокцид» и «Эйметерм 5%» на песцах в дозе 0,2 мл на 1 кг (10 мг/кг по ДВ) массы тела животного однократно составила 95%, ЭЭ препарата «Эйметерм 5%» у песцов на 3-й день составила 90%, а на 7 и 14 день 100%, у лисиц оба препарата показали одинаковую ЭЭ в одинаковых дозировках эффективность составила – 94,52%.

13) В качестве комплексной терапии на фоне эймериидозов доказана эффективность антиоксидантных препаратов «Эмидонол 5%» и «Эмидонол 10%», который вводят животным подкожно или внутримышечно один раз в сутки в течение 5-7 дней в дозе 0,2 мл/кг массы тела животного; «Эмидонол 20%» применяют пушным зверям перорально групповым способом с водой в течение 15-30 дней в дозе 2 мл на 10 кг массы тела животного. Применение препарата «Азициклин» при желудочно-кишечных инфекциях у норок, при комплексном лечении диареи, вызванной кокцидиями в дозе 1 мл/кг массы

тела норок (3,5 мг/кг массы тела животного) 1 раз в сутки в течение 3-5 дней, в тяжелых случаях – до 7 дней доказал свою высокую эффективность.

14) При гельминтозах и арахноэнтомозах пушных зверей доказана противопаразитарная эффективность препаратов «Эпримек» и «Иверсан». Эффективность препарата «Эпримек» против токсокароза, токсамаскариоза песцов и лисиц в дозе 0,2 мл на 10 кг (200 мкг действующего вещества на 1 кг массы тела) внутримышечно или подкожно однократно, у песцов составила 93,3-96,6%, а у лисиц 90,0-95,0%. Эффективность препарата «Эпримек» в данной дозе против отодектоза и афаниптероза составила 100%. Эффективность препарата «Иверсан» при пероральном применении, однократно в дозе 0,05мл препарата на 10 кг массы животного (из расчета 200 мкг действующего вещества на 1 кг веса животного), составила 90,0-93,3%. Для обработки против отодектоза и саркоптоза этот же препарат задается перорально в тех же дозах по схеме – 1 раз в три дня в течение 21 дня, а против афаниптероза – двукратно с интервалом 14 дней.

15) При проведении лечебно-профилактических мероприятий при эймериидозах норок стоимость обработки одного животного препаратами «Стоп-кокцид», «Эймертерм 5%» составит – 2,55 и 2,49Р, т.к. препараты задаются двукратно, поэтому стоимость обработки одного животного на курс – 5,1 и 4,98 Р, соответственно. При этом, удельный экономический эффект для самцов составляет – 322,66 и 337,32 Р, для самок – 138,43 и 144,71 Р на 1 рубль затрат соответственно.

Стоимость обработки песцов и лисиц от гельминтозов и арахноэнтомозов препаратом «Иверсан» составляет – 0,240 Р, а препарата «Эпримек» – 1,794 Р на одно животное. Таким образом, применение препарата «Иверсан» в 7,5 раз экономически выгоднее, чем при использовании препарата «Эпримек».

## **5 РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Понимание механизмов, посредством которых кишечные паразиты и микробы влияют друг на друга, может помочь понять и выявить их взаимосвязи, а также дать более глубокое понимание последствий таких взаимодействий для здоровья хозяина. Помимо этого, остается не до конца выясненным влияние пробиотических кормовых добавок на организм пушных зверей, в частности, больных эймериидозами и влияние изменения микрофлоры на паразитов, поэтому разработку данных тем мы считаем перспективной.

Предложенные в диссертации теоретические и практические подходы к созданию новых методов диагностики, следует внедрять в лабораторную практику повсеместно.

Изученные и внедренные в производство лекарственные препараты открывают перспективу дальнейшего расширения линейки противопаразитарных средств, а также создания комбинированных препаратов и способов лечения животных. Перспективным следует считать разработку инсектоакарицидных антикокцидийных и антигельминтных препаратов на основе новых физических, химических и биологических принципов, препятствующих выработке устойчивости у паразитов.

## ПРЕДЛОЖЕНИЯ ДЛЯ ПРАКТИКИ

Основные научные положения работы и ее практические результаты рекомендуется использовать в производственных условиях ветеринарным специалистам при подготовке к занятиям и в учебном процессе со студентами, аспирантами и научными работниками, а также при повышении квалификации и переподготовке кадрового состава ветеринарного и зоотехнического профиля.

Предложенные нами устройства и способы прижизненной диагностики эндо- и эктопаразитов и лечения животных, защищенные патентами (ПРИЛОЖЕНИЕ Б-Ж), характеризуются высоким уровнем технического решения задачи усовершенствования способов прижизненной лабораторной диагностики при паразитарных болезнях и лечения пушных зверей и могут быть использованы на практике.

Для лечения и профилактики болезней паразитарной этиологии у пушных животных мы предлагаем использовать препараты: «Стоп-кокцид», «Эпримек», «Иверсан», «Эмидонол» и «Азициклин».

Так в соответствии с инструкциями по применению:

- препарат «Стоп-кокцид» (77-3-8.17-4215№ПВР-3.21.12/02859 от 03.08.2018) назначают норкам больным эймериидозами в дозе – 0,4 мл на кг массы животного, песцам и лисицам в дозе – 0,2 мл на кг массы животного однократно в смеси с кормом или водой;
- препарат «Эпримек» (РК-ВП-5-3476-17 от 25.06.2017) для дегельминтизации и обработки животных против арахноэнотомозов (ктеноцефалидоза, отодектоза, саркоптоза) песцам и лисицам назначают в дозе 0,2 мл на 10 кг массы тела животного (200 мкг действующего вещества на 1 кг массы тела) внутримышечно или подкожно однократно;
- препарат «Иверсан» (77-3-2.19-4435№ПВР-3-12.15/03238 от 13.03.2019) песцам и лисицам задается перорально с кормом или водой из расчета 0,05 мл препарата на 10 кг массы животного (200 мкг действующего вещества на 1 кг

веса животного) однократно. Для этого 0,5 мл препарата «Иверсан» растворяют в 4,5 мл воды, полученный раствор дозируют из расчета 0,5 мл на 10 кг массы тела животного. Для обработки против отодектоза и саркоптоза этот же препарат задается перорально в тех же дозах по схеме – 1 раз в три дня в течение 21 дня, а против афаниптероза – двукратно с интервалом 14 дней;

- препарат «Эмидонол 5%» и «Эмидонол 10%» (77-3-12.18-4280№ПВР-3-21.13/02944 от 18 октября 2018 г.) – антиоксидантный препарат вводят животным подкожно или внутримышечно один раз в сутки в течение 5-7 дней в дозе 0,2 мл/кг массы тела животного;
- препарат «Эмидонол 20%» (77-3-13.18-4323№ПВР-3-21.13/02952 от 23 ноября 2018 г.) применяют животным перорально групповым способом с водой в течение 15-30 дней в дозе 2 мл на 10 кг массы тела животного;

Кроме утвержденных инструкций по применению, подготовлен проект к комбинированному антибактериальному препарату «Азициклин», из которого перед применением готовят водный раствор препарата в отношении 1:2 (1 г Азициклина на 2 мл воды), затем его задают в дозе 1 мл/кг массы тела (3,5 мг/кг массы тела животного) 1 раз в сутки в течение 3-5 дней, при тяжелых случаях – до 7 дней.

Все рекомендуемые нами препараты доказали свою высокую эффективность и безопасность во время доклинических и клинических испытаний и могут быть использованы в практической работе ветеринарными врачами.

## ПЕРЕЧЕНЬ УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ВТО – всемирная торговая организация;

СЗФО – Северо-Западный Федеральный округ;

РСЛЛ – реакция специфического лизиса лейкоцитов;

РНДТК – реакция непрямой дегрануляции тучных клеток крыс;

ЦНС – центральная нервная система;

СПП – суммационно-пороговый показатель;

МВД – максимально-введенная доза;

МПД – максимально-переносимая доза;

ГАМК – гамма аминокислота;

ЭИ – экстенсивность инвазии;

ИИ – интенсивность инвазии;

ЭЭ – экстенсивность;

ДВ – действующее вещество;

ЕР – естественная резистентность;

ФА – фагоцитарная активность;

мес. – месяц;

сут – сутки;

п.з.м. – поле зрения микроскопа;

Ч.П. – чашка Петри;

ХОС - хлорорганические соединения;

ФОС - фосфорорганические соединения;

р-ром – раствором;

к-та – кислота;

усл. ед. – условная единица;

СТК – стандартный темно-коричневый;

КОЕ – колоний образующие единицы;

ОАК – общий анализ крови;

ПЦР – полимеразная цепная реакция;

окр. – окраска;

ув. – увеличение;

ИГХ – иммуногистохимия;

БАД – биологически активная добавка;

OTU – оперативная таксономическая единица пар оснований;

OTE – операциональная таксономическая единица;

ВВЦ – Всероссийский выставочный центр;

ФБР – фосфатно-буферный раствор;

АГ – антиген;

АТ – антитело;

ПБА – патогенные биологические агенты;

NGS – (англ. next generation sequencing); – перевод: секвенирование нового поколения;

таб. – таблетки;

экз. – экземпляр;

рис. – рисунок;

ж.м.т. – живая масса тела;

♂ – самец;

♀ – самка;

₽ – рубль.



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акбаев, М. Ш. Влияние гельминтов на микрофлору пищеварительного канала животных / М. Ш. Акбаев, О. И. Русович, Р. С. Ишимбаева. - Москва : КолосС, 1995. - 18 с.
2. Акимова, С. А. Токсокароз и токсокароз плотоядных в Нижнем Поволжье (эпизоотология, патогенез и лечение) : дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19, 16.00.03 / С. А. Акимова. - Иваново, 2006. - 165 с.
3. Аниканова, В. С. Кокцидии животных зверохозяйств Карелии: автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.19 / В. С. Аниканова. - Петрозаводск, 1991. - 28 с.
4. Аниканова, В. С. Эколого-фаунистический анализ кокцидий пушных зверей в зверохозяйствах Карелии / В. С. Аниканова // Эколого-популяционный анализ паразитов и кровососущих членистоногих : сб. науч. тр. - Петрозаводск, 1991. - 20 с.
5. Аникиева, Л. В. Экологические адаптации паразитов к обитанию в условиях искусственного содержания хозяев/ Л. В. Аникиева, В. С. Аниканова // Проблемы экологической физиологии пушных зверей. Вып. 3. Петрозаводск, 2004. С. 161–170.
6. Аникиева, Л. В. Принципы и методические подходы к изучению популяционной морфологии гельминтов / Л. В. Аникиева // Эколого-популяционный анализ паразитов и кровососущих членистоногих. - Петрозаводск, 1991. - С. 30-50.
7. Анисимова, Е. И. Паразитозы американской норки в диких популяциях и зоокультуре / Е. И. Анисимова, С. В. Полоз. - Минск: Белорусская наука, 2010. - 254 с.
8. Арион, В. Я. Иммунологически активные факторы тимуса. Т. 9. Итоги науки и техники. Сер. Иммунология / В. Я. Арион. - Москва, 1981. - С. 10-50.
9. Арнастаускене, Т. В. Кокцидии и кокцидиозы домашних и диких животных Литвы / Т. В. Арнастаускене. - Вильнюс : Мокслас, 1985. - 176 с.

10. Астафьев, Б. А. Иммунологические реакции в патогенезе и клинике гельминтозов / Б. А. Астафьев // Иммунологические и биохимические аспекты взаимоотношений гельминта и хозяина. - Москва : Наука, 1988. - С. 4-16.
11. Атаев, А. М. Ассоциации стронгилят желудочно-кишечного тракта и эймерий у овец в экосистемах равнинной зоны Дагестана / А. М. Атаев, С. А. Гаджиева, У. П. Алтаксудов // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. - Москва, 2006. - 32 с.
12. Бабин, Н. А. Эколого-экономические основы защиты пушных зверей в Ямало-Ненецком автономном округе от ассоциативных инвазий : автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.19 / Н. А. Бабин ; Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной энтомологии и арахнологии. - Тюмень, 2002. - 22 с.
13. Балашов, Ю. С. Иксодовые клещи - паразиты и переносчики инфекций / Ю. С. Балашов. - Санкт-Петербург : Наука, 1998. - 287 с.
14. Банколе, А. Саркоптоидозы кроликов: усовершенствование терапии и профилактики : автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.20 / А. Банколе ; Моск. гос. акад. ветеринар. медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина.- Москва, 2002. - 23 с.
15. Бейер, Т. В. Клеточная биология споровиков возбудителей протозойных болезней животных и человека / Т. В. Бейер. - Ленинград : Наука, 1989. - 183 с.
16. Бейер, Т. В. О положении «токсоплазмид» в системе простейших / Т. В. Бейер, Ю. И. Полянский // Токсоплазмиды. - Ленинград : Наука, 1979. - С. 6-23.
17. Бейер, Т. В. Цитология кокцидий / Т. В. Бейер, Т. А. Шибалова, Л. А. Костенко. - Ленинград : Наука, 1978. - 186 с.
18. Бекетов, С. В. "Золотая осень"-2014 / С. В. Бекетов // Кролиководство и звероводство. - 2014. - № 5. - С. 2-7.

19. Беленький М. Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М. Л. Беленький. - 2-ое изд. переработ. доп.- Ленинград : Мед. литература, 1963. - 162 с.
20. Беленький М. Л., Методы определения токсичности и опасности химических веществ, 1970.
21. Беленький, М. А. Эксперименты количественной оценки фармакологического эффекта / М. А. Беленький. - Ленинград. - 1983. - 71 с.
22. Белова, Л. М. Действие препарата "Флайблок" на слизистые оболочки глаз / Л. М. Белова, А. Н. Токарев, Н. А. Гаврилова [и др.] // Материалы международной научной конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ. - 2017. - С. 8-10.
23. Белова, Л. М. Новая универсальная флотационная жидкость для комплексных лабораторных исследований / Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова, Д. Н. Пудовкин // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2012. - Т. 1. - №. 4. - С. 15-17.
24. Берестов, В. А. Биохимия и морфология крови пушных зверей / В. А. Берестов. - Петрозаводск : Карелия, 1971. - 291 с.
25. Берестов, В. А. Звероводство: учебное пособие / В. А. Берестов. - Санкт-Петербург : Лань, 2002. - 331 с.
26. Берестов, В. А. Лабораторные методы оценки состояния пушных зверей / В. А. Берестов. - Петрозаводск : Карелия, 1981. - 151 с.
27. Берестов, В. А. Научные основы звероводства / В. А. Берестов. - Ленинград : Наука, 1985. - 477 с.
28. Биохимические аспекты паразито-хозяйственных отношений при кокцидиозах домашних птиц. Под. ред.: М. А. Мусаев, Я. Я. Елчиев, А. М. Суркова, Г. Г. Ибрагимова. - Баку: Элм, 1977. - 153 с.
29. Борзенко, Т. В. Характеристика гуморальных факторов противовирусного иммунитета у собак в процессе поствакцинального иммуногенеза : автореферат дис. ... кандидата биологических наук : 16.00.03 /

- Т. В. Борзенко ; Всерос. науч.-исслед. ин-т эксперим. ветеринарии им. Я. Р. Коваленко. - Москва, 2005. - 25 с.
30. Бочкарев, В. Н. Паразитозы животных и адаптационно-иммунные процессы при некоторых ассоциативных болезнях, принципы лечения и профилактики : автореферат дис. ... доктора ветеринарных наук : 03.00.19. / В. Н. Бочкарев ; Санкт-Петербург. гос. акад. ветеринар. медицины. - Санкт-Петербург, 1997. - 39 с.
31. Булатов, В. П. Клиника, диагностика и лечение гельминтозов у детей : Методические рекомендации / В. П. Булатов, Л. К. Фазлеева, Д. С. Галеева [и др.]. - Казань, 1997.
32. Вейсман, И. Л. Введение в иммунологию / И. Л. Вейсман, Е. Х. Лерой, Б. В. Уильям. - Москва : Высшая школа, 1983. - 160 с.
33. Вейсов, А. М. Материалы к изучению кокцидий кроликов в АзССР / А. М. Вейсов // Кишечные простейшие. - Вильнюс, 1982. - С. 38-42.
34. Вершинин, И. И. К биологии *Isospora bigemina* / И. И. Вершинин, В. И. Петренко // Ветеринария. - 1972. - №9.
35. Вершинин, И. И. Кокцидиозы животных и их дифференциальная диагностика / И. И. Вершинин. - Екатеринбург. - 1996. - 264 с.
36. Власенко, Ю. И. Гельминтозы плотоядных Краснодарского края и меры борьбы с ними : дисс. ... канд. вет. наук : 03.00.19 / Ю. И. Власенко. - Ставрополь, 2007. - 163 с.
37. Герасимчик, В. А. Кишечные паразитозы пушных зверей (этиология, эпизоотология, патогенез, диагностика, терапия и профилактика) : автореф. дис. ... док. вет. наук. - Минск, 2008. - С. 41.
38. Герасимчик, В. А. Эймериидозы норок и хорьков в хозяйствах Республики Беларусь / В. А. Герасимчик // Ученые записки УО ВГАМВ. - Витебск: 2004, 160 с.
39. Герасимчик, В. А. Эймериозы и изоспорозы норок зверохозяйств Республики Беларусь (этиология, эпизоотология, патогенез, симптоматика,

- терапия и профилактика) : дис. ... канд. вет. наук: 03.00.19 / В. А. Герасимчик. - Минск, 1996. -162 с.
40. Герасимчик, В. А. Эффективность репеллентного шампуня «Doctor VIC» при эктопаразитозах плотоядных / В. А. Герасимчик, Еремеев Е. С // Ветеринарный журнал Беларуси. - № 1 (8). - Витебск 2018. - с. 54-57
41. Герасимчик, В. А., Морфобиологическая характеристика эймериид норок / В. А. Герасимчик, О. Ю. Зыбина // Ученые записки УО ВГАВМ. - т. 46. - № 1-1. - Витебск, - 2010. - с. 101-104.
42. Гизатуллина, Ф. Г. Коррекция естественной резистентности животных при патологии в экологически неблагоприятных условиях Южного Урала : монография / Ф. Г. Гизатуллина ; ФГОУ ВПО «Уральская гос. акад. ветеринарной медицины». - Троицк : УГАВМ : МиниТип, - 2006. - 195 с.
43. ГОСТ 10322-71. Шкурки норки выделанные. Технические условия (с Изменениями N 1-5) : дата введения 1972-01-01. - Москва : Издательство стандартов, 1994. - 10 с.
44. ГОСТ 12.1.007-76. Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности (с Изменениями N 1, 2) : дата введения 1976-03-10. - Москва : Госстандарт, 1976. - 7 с.
45. ГОСТ 20269-93. Шерсть. Методы определения разрывной нагрузки : межгос. стандарт : изд. офиц. : дата введения 1996-01-01. - Москва : Издательство стандартов, 1995. - 12 с.
46. ГОСТ 25383-82. Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики кокцидиоза (с Изменением N 1) : изд. офиц. : дата введения 1983-01-01. - Москва : Издательство стандартов, 1982. - 13 с.
47. ГОСТ 27769-88. Шкурки норки клеточного разведения невыделанные. Технические условия : изд. офиц. : дата введения 1991-09-30. - Москва : Издательство стандартов, 1988. - 15 с.

48. ГОСТ Р 55587-2013 Шкурки норки клеточного разведения невыделанные. Технические условия : изд. офиц. : дата введения 2015-01-01. - Москва : Стандартиформ, 2014. - 25 с.
49. ГОСТ Р 50779.10-2000. Статистические методы. Вероятность и основы статистики. Термины и определения : изд. офиц. : дата введения 2001-07-01. - Москва: Стандартиформ, 2008. - 42 с.
50. ГОСТ Р 54627-2011. Животные сельскохозяйственные жвачные. Методы лабораторной диагностики гельминтозов : изд. офиц. : дата введения 2013-01-01. - Москва: Стандартиформ, 2013. - 16 с.
51. Гришина, Е. А. Иммуно-биологические основы патогенеза кишечных нематодозов : автореф. дис... д-ра биол. наук : 03.02.11 / Е. А. Гришина. - Москва, 2019. - 48 с.
52. Давлетшин, А. Н. Саркоптоидозы плотоядных животных и меры борьбы с ними : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.19 / А. Н. Давлетшин. - Тюмень, 2000.- 47 с.
53. Данилевская, Н. В. Микрофлора кишечника собак: физиологическое значение, возрастная динамика, дисбактериозы. Коррекция: Часть 1. Нормальная микрофлора кишечника собак / Н. В. Данилевская, В. В. Субботин. - Ветеринар. - №1. - 2002. - С. 25.
54. Данилов, Е. П. Болезни пушных зверей / Е. П. Данилов, В. А. Майоров, А. И. Чижов ; под ред. Е. П. Данилова. - 3-е изд., перераб. и доп. - Москва : Колос, 1984. - 336 с.
55. Даугалиева, Э. Х. Иммунный статус и пути его коррекции при гельминтозах сельскохозяйственных животных / В. В. Филиппов. - Москва : Агропромиздат, 1991. - 188 с.
56. Даугалиева, Э. Х. К механизму патогенеза и иммунитета при гельминтозах / Э. Х. Даугалиева [и др.] // Материалы 2-й Закавказской конф. по паразитологии. - 1981. - С. 87-89.
57. Даугалиева, Э. Х. Особенности патогенеза и иммунологических сдвигов в организме животных при различных гельминтозах / Э. Х. Даугалиева //

Вопросы ветеринарной паразитологии в Казахстане ; науч. ред. Э.Х. Даугалиева. - Алма-Ата, 1978. - С. 71-74.

58. Даугалиева, Э. Х. Патогенез гельминтозов / Э. Х. Даугалиева // Химиопрофилактика, патогенез и эпизоотология паразитозов с.-х. животных. - Алма-Ата, 1981. - С. 29-38.

59. Директива Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей. (European Convention for Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes (ETS 123)). - Strasbourg, 1986. - 346 с.

60. Догель, В. А. Общая протозоология / В. А. Догель, Ю. И. Полянский, Е. М. Хейсин ; под ред. В. А. Догеля. - Москва : Изд. АН СССР, 1962. - С. 159.

61. Доронин, М. В. Саркоптоз пушных зверей и собак: Эпизоотология, патогенез, меры борьбы : автореферат дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19 / М. В. Доронин ; Санкт-Петербург. гос. акад. ветеринар. медицины. - Санкт-Петербург, 2003. - 18 с.

62. Дорофейчук, В. Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом / В. Г. Дорофейчук // Лабораторное дело. - 1968. - №1. - С.28-30.

63. Дорошева, А. М. Кишечные паразитозы пушных зверей в условиях Центральной зоны Нечерноземья и меры борьбы с ними: автореф. дис. канд. вет. наук: спец. 03.02.11 / Дорошева А. М. // Московская акад. вет. мед. им. К. И. Скрябина - М., 2010. - С. 24.

64. Дубинин, В. Б. Чесоточные клещи / В. Б. Дубинин. - Москва : Изд. Советская наука, 1954. - 72 с.

65. Дьяченко, Ю. В. Арахноэнтомозы плотоядных : Эпизоотическая ситуация, патогенез, симптомы и меры борьбы : автореферат дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19 / Ю. В. Дьяченко ; Ставропольская гос. с.-х. акад. - Ставрополь, 1998. - 25 с.

66. Емельяненко, П. А. Методические указания по тестированию естественной резистентности телят / П. А. Емельяненко // Ветеринария. 1979. №1. С. 33-35.
67. Енгашев, С. В. Антигельминтные препараты для ветеринарной практики и их эффективность / С. В. Енгашев, Э. Х. Даугалиева, М. Д. Новак. - Рязань, 2015. - 69 с.
68. Енгашев, С. В. Новые лекарственные формы ветеринарных препаратов при паразитарных болезнях / С. В. Енгашев, С. В. Ларионов // Саратов, 2002. - 322 с.
69. Енгашева, Е. С. Изучение местно-раздражающих средств и аллергических свойств препарата Эмидонол 10% / Е. С. Енгашева, Д. Д. Новиков, Р. Ф. Тухфатова [и др.] // Аграрная наука и образование на современном этапе развития : материалы V Международной научно-практической конференции: опыт, проблемы и пути их решения / Ульяновская гос. с.-х. акад. им. П. А. Столыпина. - Ульяновск : ГСХА им. П. А. Столыпина, 2013. - С. 46-51.
70. Енгашева, Е. С. Кумулятивные свойства препарата Эмидонол 10% / Е. С. Енгашева, Ю. Е. Кузнецов, Р. Ф. Тухфатова // Аграрная наука и образование на современном этапе развития : материалы V Международной научно-практической конференции: опыт, проблемы и пути их решения / Ульяновская гос. с.-х. акад. им. П. А. Столыпина. - Ульяновск : ГСХА им. П. А. Столыпина, 2013. - С. 51-55.
71. Енгашева, Е. С. Эмбриотоксическое и тератогенное действие Эмидонола 10% раствора / Е. С. Енгашев, А. В. Морозова, Ю. Е. Кузнецов // Сборник материалов V Международной научно-практической конференции. Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. (Ульяновск, дата, 2013 г.). - 2013. - С. 62-64.
72. Еремина, Т. С. Саркоптоидозы лисиц, песцов, енотовидных собак, хорей и меры борьбы с ними : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19 / Т. С.



- Еремина ; Российская академия с/х наук ГНУ НИИ пушного звероводства и кролиководства им. Афанасьева. - п. Родники, Московской обл., 2003. - 15 с.
73. Еремина, Т. С. Саркоптоидозы лисиц, песцов, енотовидных собак, хорей и меры борьбы с ними : дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19 / Т. С. Еремина ; Российская академия с/х наук ГНУ НИИ пушного звероводства и кролиководства им. Афанасьева - п. Родники, Московской обл., 2003. - 117 с.
74. Есаулова, Н. В. Гельминтофауна домашних и диких плотоядных в условиях Центральной зоны Нечерноземья и усовершенствование мер борьбы с основными гельминтозами : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19 / Н. В. Есаулова ; Моск. гос. акад. ветеринар. медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина. - Москва, 2001. - 17 с.
75. Есаулова, Н. В. Методические положения по комплексной терапии и профилактике кишечных паразитозов песцов / Н. В. Есаулова // Российский паразитологический журнал. - 2011. - № 3. - С. 121-124.
76. Есаулова, Н.В. Гельминтофауна домашних и диких плотоядных в условиях Центральной зоны Нечерноземья и усовершенствование мер борьбы с основными гельминтозами : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19, 16.00.03 / Н.В. Есаулова. - Москва. - 2003. - 22 с.
77. Жданова, О. Б. Паразитозы плотоядных: патогенез, иммуноморфология и диагностика : дис. ... доктора биол. наук : 03.00.19 / О. Б. Жданова ; Всерос. науч.-исслед. ин-т гельминтологии им. К. И. Скрябина. - Москва, 2007. - 429 с.
78. Заренкова, В. В. Инсектоакарицидная активность комплексного препарата на основе фипронила и перметрина в лабораторных условиях / В. В. Заренкова, О. Ю. Засыпкин, Д. И. Удавлиев [и др.] // Российский журнал проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. - 2016. - № 4 (20) - С.40-44.
79. Иммуногистохимические методы. Руководство / ред. G. L. Kumar, L. Rudbeck.: пер. с англ. под ред. Г. А. Франка, П. Г. Малькова. - Москва: У Никитских ворот, 2011. - 224 с.

80. Иркатанова, М. А. К паразитофауне пушных зверей / М. А. Иркатанова // Труды Семипалатинского зооветинститута. -1966. - Т. 4. - С. 223-224.
81. Кадыров, Д. А. Болевой синдром при глистной инвазии / Д. А. Кадыров, Э. Б. Бердыева, К. Г. Нурлиев, М. Д. Муратова [и др.] // Молодой ученый. - 2017. - № 20 (154). - С.192-195.
82. Кайрулаева, Г. Ж. Влияние гельминтов на иммунную систему больных с аскаридозной инвазией / Г. Ж. Кайрулаева, А. Ж. Койшубаева, Н. С. Ташетова, Б. Ж. Култанов [и др.] //Актуальные научные исследования в современном мире. - 2017. - № 1-3 (21). - С.32-36.
83. Калюжный, С. И. Антгельминтная активность оксодиона при токсокарозе / С. И. Калюжный // Направления стабилизации, развития и выхода из кризиса АПК в современных условиях: тез. докл. межд. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов / Воронежский гос. аграрный университет им. Императора Петра I. - Воронеж, 1999. - С.139.
84. Калюжный, С. И. Кишечные паразитозы собак и меры борьбы при микстинвазии (токсокароз+цистоизоспороз) у щенков : 03.00.19 / С. И. Калюжный ; Саратов. гос. аграр. ун-т им. Н. И. Вавилова. - Саратов, 2000. - 23 с.
85. Карпенко, Л. Ю. Значение биохимических показателей крови / Л. Ю. Карпенко // В сборнике : Новые возможности практической ветеринарии - 2017 Материалы XXVII Ветеринарной научно-практической конференции. - Калининград, - 2017. - С. 1-17.
86. Катаева, Т. С. Эпизоотология и терапия основных арахнозов домашних животных в Краснодарском крае : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 03.00.19 / Т. С. Катаева ; Всерос. науч.-исслед. ин-т гельминтологии им. К.И. Скрябина. - Москва, 2009. - 42 с.
87. Кербабаяев, Э. Б. Некоторые аспекты изучения акаро-энтомозов и борьба с ними в современных условиях / Кербабаяев Э. Б. // Состояние, проблемы и перспективы развития вет. науки в России. -1999. - Том 2. - С. 44-46.

88. Кербабаяев, Э. Б. Основы ветеринарной акарологии. Методы и средства борьбы с клещами / Э. Б. Кербабаяев // Труды Всероссийского института гельминтологии им. К.И. Скрябина. -1998. - Том 34. - 220 с.
89. Кирдун, В. С. Эпизоотология гельминтозов и протозоозов пушных зверей в зверохозяйствах Республики Беларусь / В. С. Кирдун // Весці Академіі Аграрных навук Рэспублікі Беларусь. - 2000. - №1. - С.68-80.
90. Ковальчук, Л. В. Клиническая иммунология и аллергология с основами общей иммунологии: учебник для студентов учреждений высшего профессионального образования, / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, Р. Я. Мешкова. Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2011. - 639 с.
91. Козьявин, В. Н. Иммунотерапия и иммунопрофилактика диктиокаулеза крупного рогатого скота : дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19, 16.00.03 / В. Н. Козьявин ; Нижегород. гос. с.-х. акад. - Нижний Новгород, 2003. - 127 с.
92. Колабский, Н. А. Кокцидиозы сельскохозяйственных животных / Н. А. Колабский, П. И. Пашкин. – Москва: Колос, 1974. -160 с.
93. Королев, Б. А. Применение акарицидов нового поколения в лечении отодектозной инвазии песцов / Б. А. Королев, М. А. Левченко, А. Н. Давлетшин, Ю. В. Кошевко // Кролиководство и звероводство. - 2013. - №4 - С.19-20.
94. Красовский, Г. Н. Среднее время гибели животных как параметр для прогнозирования хронической токсичности веществ / Г. Н. Красовский, Н. А. Егорова, З. И. Жолдакова [и др.] // Гигиена и санитария. - 1992. - № 9 -10. - С. 15-17.
95. Крылов, М. В. Кокцидиозы домашних животных / М. В. Крылов, В. И. Зайонц, Ю. П. Илюшечкин // Арахнозы и протозойные болезни с.-х. животных ; под ред. М. В. Крылова. - Москва, 1977. - С. 171-182.
96. Крылов, М. В. Определитель паразитических простейших (человека, домашних животных и сельскохозяйственных растений) / М. В. Крылов. - Санкт-Петербург : ЗИН, 1996 - С. 149-156; 412-414.

97. Крылов, М. В. Теоретические основы борьбы с кокцидиозами птиц / М. В. Крылов, А. Е. Хованских, В. И. Зайонц // Кишечные простейшие; под ред. М.В. Крылова. - Вильнюс, 1982. - С. 75-82.
98. Кузнецов, Ю. Е. Клинические признаки и патологоанатомические изменения при микстинвазиях у песцов и лисиц / Ю.Е. Кузнецов // Международный вестник ветеринарии. - Санкт-Петербург. - 2019. - № 4. - С. 43-50.
99. Кузнецов, Ю. Е. Дифференциальная диагностика эймериидозов норок от болезней вирусной этиологии иммуногистохимическим методом / Ю.Е. Кузнецов, Л.М. Белова, Н.А. Гаврилова и др. // Материалы III международного паразитологического симпозиума Современные проблемы общей и частной паразитологии. - СПбГАВМ. - СПб, - 2019. - 314 с.
100. Кузнецов, Ю. Е. Особенности диагностики и патоморфологии эймериидозов норок в зверохозяйствах Северо-Западного региона Российской Федерации / Ю. Е. Кузнецов, Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова и др. // Сельскохозяйственная Биология, - 2020, том 55, - № 2. - С. 378-393. doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.378rus.
101. Кузнецов, Ю. Е. Бактерицидная активность крови при эймериидозах норок и на фоне специфической и иммунокорректирующей терапии / Ю. Е. Кузнецов // Международный вестник ветеринарии. - Санкт-Петербург. - 2016. - № 4. - С. 34-39.
102. Кузнецов, Ю. Е. Биологическое действие эпримека / Ю. Е. Кузнецов, Г. И. Павленко, А. А. Смирнов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2014. - № 4. - С. 106-110.
103. Кузнецов, Ю. Е. Влияние синантропных животных на распространение паразитарных болезней / Ю. Е. Кузнецов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2012. - № 4-1. - С.31-33.
104. Кузнецов, Ю. Е. Дегельминтизация песцов и енотовидных собак на фоне антиоксиданта Эминол / Ю. Е. Кузнецов, Э. Б. Никонова, Д. Д. Новиков // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями : материалы научной

- конф. Всероссийского Общества Гельминтологов РАН / ВНИИП - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. - Москва, 2013. - № 14. - С.193-196.
105. Кузнецов, Ю. Е. Изучение острой и субхронической токсичности препарата эпримек / Ю. Е. Кузнецов, Г. И. Павленко, А. А. Смирнов и др. // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2018. - № 4. - С.147-150.
106. Кузнецов, Ю. Е. Испытание акарицидных свойств диатомитового тонкодисперсного порошка на тест объектах – клещах *Dermanyssus gallinae* / Кузнецов Ю.Е., Кузнецова Н.В., Никонов И.Н., Кочиш И.И. // В сборнике: Современные проблемы общей и частной паразитологии Материалы III международного паразитологического симпозиума. 2019. С. 168-171.
107. Кузнецов, Ю. Е. Изучение терапевтической эффективности «Стоп-кокцида» у норок, лисиц и песцов / Ю. Е. Кузнецов, Е. Н. Канапелько // Кролиководство и звероводство. - 2017. - № 4. - С. 37-38.
108. Кузнецов, Ю. Е. Изучение эффективности кокцидиостатика стоп-кокоцид при эймериозе и изоспорозе норок / Ю. Е. Кузнецов // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями : материалы научной конф. Всероссийского Общества Гельминтологов РАН / ВНИИП - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. - Москва, 2015. - № 16. - С. 199-200.
109. Кузнецов, Ю. Е. Кишечные паразитозы пушных зверей в хозяйствах Ленинградской области : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.02.11 / Ю. Е. Кузнецов ; Санкт-Петербург. гос. акад. ветеринар. медицины. - Санкт-Петербург, 2012. - 22 с.
110. Кузнецов, Ю. Е. Клинические испытания антигельминтика широкого спектра действия - «Эпримек» на лисицах / Ю. Е. Кузнецов, А. А. Смирнов // Международный вестник ветеринарии. - 2015. - № 2. - С.33-35.
111. Кузнецов, Ю. Е. Клиническое испытание комплексного антибиотика азициклина при кокцидиозе норок / Ю. Е. Кузнецов // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями : материалы научной конф.

Всероссийского Общества Гельминтологов РАН / ВНИИП - филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН. - Москва, 2015. - № 16. - С. 201-202.

112. Кузнецов, Ю. Е. Острая и подострая токсичность препарата эпримек / Ю. Е. Кузнецов, Г. И. Павленко, А. А. Смирнов // Вестник АПК Ставрополя. - 2015. - № 1 (17). - С.107-110.

113. Кузнецов, Ю. Е. Оценка антимикробной активности препарата азидокс / Ю. Е. Кузнецов, Э. Б. Никонова // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2015. - № 4. - С.161-163.

114. Кузнецов, Ю. Е. Распространение кишечных паразитов среди пушных зверей / Ю. Е. Кузнецов // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. - 2015. - № 1 (25). - С.45-47.

115. Кузнецов, Ю. Е. Сравнение экономической эффективности антигельминтных препаратов «Иверсан» и «Эпримек» / Ю. Е. Кузнецов, Н. В. Кузнецова, Н. А. Лукоянова // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии : материалы V Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвящ. 145-летию со дня рождения профессора Савича В. В. / Санкт-Петерб. гос. акад. ветеринар. медицины. - Санкт-Петербург, 2019. - С.113-115.

116. Кузнецов, Ю. Е. Сравнение экономической эффективности кокцидиостатииков, применяемых для лечения норок / Ю. Е. Кузнецов // Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии : материалы V Международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов, посвящ. 145-летию со дня рождения профессора Савича В. В. / Санкт-Петерб. гос. акад. ветеринар. медицины. - Санкт-Петербург, 2019. - С.110-113.

117. Кузнецов, Ю. Е. Сравнительная оценка острой токсичности препаратов стоп-кокцид, эйметерм суспензии 5% и ВАУСОХ 5% при внутрижелудочном введении мышам / Ю. Е. Кузнецов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2015. - № 1. - С.108-111.

118. Кузнецов, Ю. Е. Сравнительная эффективность разных кокцидиостатиков при эймериидозах норок / Ю. Е. Кузнецов // Материалы II Международного Ветеринарного Конгресса VETinstanbul Group-2015 / Санкт-Петербург. гос. акад. ветеринар. медицины. - Санкт-Петербург, 2015. - С.246.
119. Кузнецов, Ю. Е. Токсикологические свойства препарата Эмидонол 10% / Ю. Е. Кузнецов, Э. Б. Никонова, Д. Д. Новиков // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. - 2014. - № 1 (21). - С.53-56.
120. Кузнецов, Ю. Е. Эймериидозы норок / Ю. Е. Кузнецов // Современная наука: Актуальные проблемы и пути их решения : материалы 21-й Международной научной конференции / Липецкий гос. технический университет. - Липецк, 2015. - С.48-50.
121. Кузнецов, Ю. Е. Эффективность антигельминтика эпримек на песцах / Ю. Е. Кузнецов, А. А. Смирнов, Э. Б. Никонова // Ветеринария. - 2016. - № 1. - С.29-30.
122. Кузнецов, Ю. Е. Эффективность препарата «Иверсан» при демодекозе плотоядных / Ю. Е. Кузнецов, Н. А. Гаврилова // Современные проблемы общей и частной паразитологии : материалы II Международного паразитологического форума / Санкт-Петербург. гос. акад. ветеринар. медицины. – Санкт-Петербург, 2017. - С. 150-154.
123. Кузовлева, Л. В. Эпизоотология и меры борьбы при паразитарных болезнях пушных зверей (гельминтозы и протозоозы пушных зверей в звероводческих хозяйствах Республики Беларусь) / Л. В. Кузовлева // Ветеринария. реферативный журнал. - 2002. - № 1. - С. 343.
124. Куликов, В. А. Отражение межвидовых взаимоотношений гельминтов в реакциях организма песка на смешанную инвазию / В. А. Куликов, Л. В. Аникиева // Материалы IX науч. конф. Украинского паразитологического общества; под ред. В.А. Куликова. - Киев: Наукова думка, 1980. - Ч.2. - С. 198-199.
125. Курильщикова, А. М. Методы и объекты метагеномных исследований / А. М. Курильщикова, Н. В. Тикунова, М. Р. Кабилов // Вестник Новосибирского

Государственного Университета. серия: биология, клиническая медицина. - 2012. - Том 10. - №1- С.191-201.

126. Курочкина, К. Г. Иммуностимулирующие свойства Полисепта, Аквафтема (Н) и (НГ), Аквапиопола (ЕГ) / К. Г. Курочкина // Бюллетень Всесоюзного института гельминтологии имени К. И. Скрябина. - 1996. - № 56. - С.39.

127. Ланге, А. Б. Паразитизм чесоточного зудня *Sarcoptes scabiei* (Acariformes: Sarcoptidae) / А. Б. Ланге, Т. В. Соколова // Паразитология. - 1992. - № 4. - С. 281-294.

128. Латкина, Е. И. Распространение отодектоза собак и кошек в Сургутском районе Ханты-Мансийского автономного округа и изучение эффективности новых препаратов при этой инвазии : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.00.20 / Е. И. Латкина ; Всерос. науч.-исслед. ин-т ветеринар. энтомологии и арахнологии. - Тюмень, 2007. - 22 с.

129. Лейкина, Е. С. // Гельминтозы человека. - Москва: Медицина, 1985. - С. 52-69.

130. Лейкина, Е. С. Заболевания человека, вызванные миграцией личинок нематод животных / Е.С. Лейкина // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. - 1962. - № 1. - С. 100.

131. Лейкина, Е. С. Стимулирующее и супрессивное действие гельминтов на иммунный ответ хозяина к антигенам других инфицирующих его агентов / Е.С. Лейкина // Работы по гельминтологии. – Москва: Наука, 1981. - С. 104-111.

132. Литвинова, В. А. Отодектоз голубых песцов: Морфология, биология, эпизоотология и лечение : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.19 / В. А. Литвинова ; Башкир. гос. аграр. ун-т. - Уфа, 2002.- 22 с.

133. Логинова, О. А. Гельминтоовоскопия: опыт дифференциальной диагностики яиц гельминтов и имитирующих их объектов / О. А. Логинова, Л. М. Белова // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. - 2015. - №3 (27). - С. 44-47.



134. Логинова, О. А. Копрологическая диагностика гельминтозов полудиких животных: источники ошибок первого и второго рода / О. А. Логинова, Ю. Е. Кузнецов, Л. М. Белова, В. А. Ширяева // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2019. № 3 (43). С. 42-46.
135. Малахова, Е. И. Современная эпизоотическая ситуация по паразитозам и мерам борьбы (по данным координационного совещания) / Е. И. Малахова, В. Ю. Шубадеров // Российский паразитологический журнал. - 2011. - №2. - С. 60-68.
136. Мамыкова, О. И. Влияние панакура и микрокапсулированного нафтамона на Т- и В-системы иммунитета / О. И. Мамыкова // Гельминтология сегодня: проблемы и перспективы : тез. докладов ВОГ. - Москва, 1998. - С.197-199.
137. Мамыкова, О. И. Оценка иммунобиологического статуса животных после дегельминтизации и пути его коррекции: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 03.00.20 / О. И. Мамыкова; Всесоюз. НИИ гельминтологии им. К.И. Скрябина. -Москва, 1990. - 22 с.
138. Метелкин, А. И. О патогенезе кокцидиоза /А. И. Метелкин // Каракулеводство и звероводство. - 1948. - №2. - С. 75-77.
139. Методические рекомендации по исследованию поведенческих реакций животных в токсикологических исследованиях для целей гигиенического нормирования. Москва, 1979, С.75.
140. Методы определения токсичности и опасности химических веществ (Токсикометрия) : под ред. И. В. Саноцкого. - Москва : Медицина, 1970 - 317 с.
141. Методы статистической обработки медицинских данных: Методические рекомендации для ординаторов и аспирантов медицинских учебных заведений, научных работников / сост.: А. Г. Кочетов, О. В. Лянг., В. П. Масенко, И. В. Жиров, С. Н. Наконечников, С. Н. Терещенко - Москва: РКНПК, 2012. - 42 с.

142. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания / Утв. Главным государственным врачом РФ 04.03.2004.
143. МУК 4.2.3145-13 Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов. Методические указания. 4.2. Методы контроля. биологические и микробиологические факторы. Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов.
144. Мусаев, М. А. Кокцидии грызунов СССР / М. А. Мусаев, А. М. Вейсов – Баку : Изд-во Акад. наук АзССР Ин-т зоологии, 1965. - 154 с.
145. Мусатов, М. А. Отодектоз пушных зверей в условиях Центральной части Российской Федерации и усовершенствование мер борьбы с ним : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19 / М. А. Мусатов ; Моск. гос. акад. ветеринар. медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина. – Москва, 2003. - 16 с.
146. Мусатов, М. А. Эпизоотическая ситуация по паразитарным болезням клеточных пушных зверей в российской федерации / М. А. Мусатов, Р. Т. Сафиуллин, Т. А. Нифонтова [и др.] // Теория и практика паразитарных болезней животных. М. - 2010. - С. 1-4.
147. Написанова, Л. А. Токсокароз пушных зверей и домашних плотоядных, гематологические показатели /Л. А. Написанова, О. Б. Жданова, И. И. Окулова, С. П. Ашихмин [и др.] // Российский паразитологический журнал. - 2016. - Т. 36. - Вып. 2. - С. 210-216.
148. Никонова, Э. Б. Острая и субхроническая токсичность препарата Эминол 10% / Э. Б. Никонова, Д. Д. Новиков, Ю. Е. Кузнецов // Международный вестник ветеринарии. - 2013. - № 3. - С. 42-45.
149. Никонова, Э. Б. Супрессия Т-лимфоцитов у норок на фоне нарушения минерального обмена / Э. Б. Никонова, В. И. Максимов // Ветеринарная патология. - 2006. - № 3 (18). - С. 128-132.
150. Никонова, Э. Б. Физиологическая реактивность норок в постнатальном онтогенезе и пути ее коррекции: дис. ... доктора биол. наук: 06.02.03 / Э. Б. Никонова ; Звероводство и охотоведение. - Родники, 2008. - 321 с.

151. Нукербаева, К. К. Зараженность пушных зверей кокцидиями в зверохозяйствах Казахстана / К. К. Нукербаева, С. К. Сванбаев // Вестник с.-х. науки Казахстана. - Алма-Ата, 1975. - Вып. 10. - С. 92-95.
152. Нукербаева, К. К. Кокцидии пушных зверей в Казахстане / К.К. Нукербаева, С. К. Сванбаев // Вестник с.-х. науки Казахстана. - Алма-Ата, 1973. - Вып.12. - С. 50-54.
153. Нукербаева, К. К. Кокцидии пушных зверей в Казахстане: автореф. дис. ... канд. биол. наук. 03.00.19 / К. К. Нукербаева ; АН КазССР. - Алма-Ата, 1973. -28 с.
154. Нукербаева, К. К. Кокцидиоз норок / К.К. Нукербаева // Вестник с.-х. науки Казахстана. - 1983. - Вып. 2. - С. 86-88.
155. Нукербаева, К. К. Протозойные болезни ферменных пушных зверей / К. К. Нукербаева. – Алма-Ата : Наука, 1981. - 168 с.
156. Нукербаева, К. К. Результаты изучения кокцидий пушных зверей / К.К. Нукербаева, С.К. Сванбаев // Тр. Ин-та зоол. АН КазССР. - 1977. - Вып. 37. - С. 51-90.
157. Орлов, Н. П. Кокцидиозы сельскохозяйственных животных / Н. П. Орлов. - Москва: Сельхозиздат, 1956. - С. 165.
158. ОФС 42-0068-07. Определение антимикробной активности антибиотиков методом диффузии в агар // ГФ XII, ч.1, с.194-216.
159. Панин, А. Н. Иммунобиология и кишечная микрофлора / А. Н. Панин, Н. И. Малик, Е. В. Малик. - Москва: Аграр. наука : Родник, 1998. - 45 с.
160. Патент № 166382 Российская Федерация, МПК А61D 1/00 (2006.01). Устройство для взятия соскоба с кожи животного : № 2016108097 : заявл. 04.03.2016 : опубл. 20.11.2016 / Л. М. Белова, Ю. Е., Кузнецов, Н. В. Кузнецова, Н. А. Гаврилова [и др.]. - 4 с.
161. Патент № 170610 Российская Федерация, МПК А61D 1/00(2006.01). Устройство для взятия соскоба с кожи животного : № 2016148746 : заявл. 12.12.2016 : опубл. 02.05.2017, Бюл. № 13 / Ю. Е. Кузнецов, Л. М. Белова, Н. В. Кузнецова. – 4 с.

162. Патент № 180046 Российская Федерация, МПК C12M 1/22(2006.01). Чашка Петри : № 2017139607 : заявл. 14.11.2017 : опубл. 31.05.2018, Бюл. № 23 / Л. М. Белова, Л. Т. Рязанцева, Н. А. Гаврилова, Ю. Е. Кузнецов [и др.]. – 1 с.
163. Патент № 191895 Российская Федерация, МПК A61B 10/00(2006.01), Устройство для сбора личинок и мелких нематод из фекалий животных и человека : №2019121088 : заявл. 07.03.2019 опубл. 08.26.2019, Бюл. №24 / О.А. Логинова, Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова [и др.]. – 12 с.
164. Патент № 2472154 Российская Федерация, МПК G01N33/48 (2006.01), A61D99/00 (2006.01). Жидкость для диагностики ооцист кокцидий, цист балантидий и жиардий, яиц гельминтов разных классов, клещей, насекомых, их отдельных стадий развития : № 2010153464/13 : заявл. 27.12.2010 : опубл. 10.01.2013, Бюл. № 1 / Л. М. Белова, Н. А. Гаврилова, Д. Н. Пудовкин, А. Н. Токарев [и др.]. - 6 с.
165. Патент № 2568906 Российская Федерация, МПК A61K 31/35(2006.01), A61P 33/00(2006.01). Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных : № 2014152771/15 : заявл. 25.12.2014 : опубл. 20.11.2015, Бюл. № 32 / С. В. Енгашев, Е. С. Енгашева, Ю. Е. Кузнецов, Н. В. Кузнецова [и др.]. – 16 с.
166. Патент № 2100022 Российская Федерация, МПК A61K 31/00 (1995.12) Антигельминтное средство «Азинокс плюс» : № 95122426/13,29.12.1995 : опубл. 27.12.1997 / С. В. Енгашев. – 8 с.
167. Пипченко, Е. В. Сезонные особенности отодектоза кошек в г. Тюмени / Е. В. Пипченко, А. А. Никонов // Интеграция науки и практики для развития Агропромышленного комплекса : сб. статей Всероссийской научной конференции. - Тюмень, 2003. - С. 323-327.
168. Подушкина, М. А. Токсаскаридоз собак и голубых песцов и разработка профилактических мероприятий : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.00.19 / М. А. Подушкина ; Башкирский государственный аграрный университет. - Уфа, 2000. - 22 с.

169. Полоз, С. В. Ассоциативные паразитозы пушных зверей в Республике Беларусь / С. В. Полоз // Актуальные проблемы патологии с.-х. животных. - Минск, 2000. - С. 403-405.
170. Полоз, С. В. Влияние моноинвазии *Strongiloides martis* и паразитоценоза *Strongiloides martis* и *Eimeria vison* на морфологические показатели крови американской норки в условиях экспериментального заражения / С. В. Полоз, Е. И. Анисимова, А. М. Кекшина // Уч. зап. учр. образования «Витебская ордена «Знак почета» гос. акад. вет. медицины»: науч. - практ. журн. - 2009. - Т.45, вып. 2, ч.1. - С.126-128.
171. Полоз, С. В. Гельминтозы пушных зверей в Беларуси / С. В. Полоз// Аграрная наука на рубеже XXI века: мат. общего собрания Академии аграрных наук Республики Беларусь. - Минск, 2000. - С. 249- 250.
172. Полоз, С. В. Особенности патогенеза и терапия ассоциативных гельминтозов пушных зверей / С. В. Полоз // Вестн Акадэмп Аграрных навук Рэспублш Беларусь. - 2000. - № 2. - С. 92-95.
173. Полоз, С. В. Особенности эпизоотологии и меры борьбы при паразитарных болезнях пушных зверей / С. В. Полоз, М. В. Якубовский // Ветеринария. - 2000. - № 8. - С. 28-30.
174. Полоз, С. В. Эффективность некоторых препаратов при паразитозах пушных зверей / С. В. Полоз // Актуальные проблемы патологии с.-х. животных. - Минск, 2000. - С. 405-406.
175. Потемкин, В.И. Клиническая картина и терапия отодектоза собак / В. И. Потемкин // Труды МВА. - 1956. - Т. 12. - С. 151-153.
176. Приказ МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 года и приказа Министерства высшего и среднего специального образования СССР от 13.11.1984 года «О правилах проведения работ с использованием экспериментальных животных».
177. Приказ Минздрава СССР № 535 от 22.04.1985 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинической диагностике лабораторных и лечебно-профилактических учреждениях».

178. Ромашова, Е. Н. Гельминты диких плотоядных Воронежской области: эколого-фаунистический анализ / Е. Н. Ромашова, М. В. Рогов, Б. В. Ромашов, П. И. Никулин. - Воронеж : Воронежский государственный аграрный университет им. Императора Петра I, 2012. - С. 23-33.
179. Роскин, Г. И. Микроскопическая техника / Г. И. Роскин, Л. Б. Левинсон. - Москва: Советская наука, 1957. - С. 134-140.
180. Рукавицын, М. И. Влияние иммунокорректоров (норстимулина, тимоактивина-199) и катозала на продуктивность кроликов при специфической профилактике вирусной геморрагической болезни (ВГБК) : дис. ... канд. биол. наук : 06.02.03, 16.00.03 / М. И. Рукавицын ; Науч.-исследоват. ин-т пушного звероводства и кролиководства им. В.А. Афанасьева. - п. Родники Моск. обл., 2007. - 122 с.
181. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств (иммунобиологические лекарственные препараты): часть вторая : под ред. А. Н. Миронова. - Москва: Гриф и К, 2013. - 536 с.
182. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств: часть первая : под ред. А. Н. Миронова. - Москва : Гриф и К, 2012. - 944 с.
183. Садчиков, С. Ю. Саркоптоидозы животных и усовершенствование мер борьбы с ними: автореф. дис. ... кандидата вет. наук: 03.00.19 / С. Ю. Садчиков ; Моск. гос. акад. ветеринар. медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина. - Москва, 2001. - 24 с.
184. Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально биологических клиник (вивариев)/Утверждены Главным государственным санитарным врачом СССР П.Н. Бургасовым 6 апреля 1973 г. №104573.
185. Сафиуллин, Р. Т. Авермектины на российском ветеринарном рынке / Р.Т. Сафиуллин // Ветеринария. - 2006. - №12. - С.14-17.
186. Сафиуллин, Р.Т. Изоспороз пушных зверей / Р.Т. Сафиуллин, А.В. Шаповалов // Ветеринария. - 2005. - № 1. - С. 37-39.

187. Сафиуллин, Р.Т. Эймериоз и изоспороз пушных зверей и меры борьбы с ними / Р.Т. Сафиуллин // Российский паразитологический журнал. - 2008- № 2 - С. 84-99.
188. Сванбаев, С. К. К вопросу о кокцидиях пушных зверей в Казахстане / С. К. Сванбаев, Н. К. Рахматуллина // Труды ин-та зоологии АН КазССР: сб. науч. ст.; науч. ред. С.К. Сванбаев. - Алма-Ата, 1971. - Т. XXXI.- С. 89-91.
189. Сванбаев, С. К. Кокцидии диких животных Казахстана / С. К. Сванбаев. - Алма-Ата: «Наука» КазССР, 1979. - С. 145-157.
190. Сидоров, И. В. Справочник по лечению собак и кошек с описанием лекарственных средств / И. В. Сидоров, В. В. Калугин и др. - Москва : Нива России: Издательский дом «ОНИКС 21 век», 2001. - 576 с.
191. Скрыбин, К. И. Девастация в борьбе с гельминтозами и другими болезнями человека и животных / К. И. Скрыбин - Фрунзе: Изд. Киргиз. Фил. АН СССР, 1947. - 98 с. - URL: <https://mydocx.ru/2-66204.html> (дата обращения: 15.10.2015). - Режим доступа: для авториз. пользователей ЭБС «Лань». - Текст: электронный.
192. Скрыбин, К. И. Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных животных включая и человека / К. И. Скрыбин. - Москва: Изд-во МГУ, 1928. - С.1-45.
193. Слипец, И. В. Рекомендации по выращиванию телят профилакторного периода / И. В. Слипец. – Львов, 1990. - 120 с.
194. Слугин, В. С. Инфекционная энцефалопатия норок и ее этиологическая связь с подобными патологиями / В. С. Слугин // Ветеринария. -2004.- № 6.- С. 6-11.
195. Сперанский, С. В. О преимуществах использования нарастающего тока при изучении способности белых мышей к суммации подпороговых импульсов / С. В. Сперанский // Фармакология и токсикология. - 1965. - Т.1. - С. 123-124.
196. Справочник по клиническим лабораторным методам исследования ; под ред. Е. А. Кост. - Москва : Медиздание, 1968. - 436 с.

197. Степанов, А. А. Фармако-токсикологическая и терапевтическая оценка препаратов на основе фенилпиразола, бензилбензоата и перипроксифена при арахноэнтомозах плотоядных животных : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 03.02.11 / А. А. Степанов ; ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт гельминтологии им. К. И. Скрябина». - Москва, 2014. - 24 с.
198. Степанова, Н. И. Протозойные болезни сельскохозяйственных животных / Н. И. Степанова, Н. А. Казаков, В. Т. Заблоцкий ; под ред. Н.И. Степановой. - Москва: Колос, 1982. - С. 254-272.
199. Страчунский, Л. С. Антибактериальная терапия. Практическое руководство / Л. С. Страчунский, Ю. Б. Белоусов, С. Н. Козлов. – Москва: Типография «Полимаг», 2000. С.
200. Субботин, В. В. Микрофлора кишечника собак: физиологическое значение, возрастная динамика, дисбактериозы, коррекция Часть 1 - Нормальная микрофлора кишечника собак / В. В. Субботин, Н.В. Данилевская // Журнал «Ветеринар». - 2002. - № 1. - С.
201. Субботин, В. В. Опыт применения пробиотика лактобифадол в различных областях животноводства и птицеводства / В. В. Субботин Н. В. Данилевская // Эффективное животноводство. - 2012. - № 4. - С. 23.
202. Токарев, А. Н. Экономическое обоснование отечественных противопаразитарных препаратов / А.Н. Токарев, В.А. Ширяева, Ю.Е. Кузнецов [и др.] // Материалы 70-й юбилейной международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ / Санкт-Петерб. гос. акад. ветеринар. Медицины. - Санкт-Петербург, 2016. - С.125-126.
203. Угрин, И. Н. О видовом составе возбудителей эймериоза крупного рогатого скота в Львовской области / И. Н. Угрин, Р. Р. Сковронский // Материалы X конференции Украинского общества паразитологов. - Киев, 1986. - С.272.
204. Умурзаков, М. Д. Оздоровительные мероприятия при кокцидиозе норок / М. Д. Умурзаков, К. К. Нукербаева, А. М. Тлеппаева // Современные проблемы протозоологии. - Л., 1987. - С. 161.



205. Умурзаков, М. Д. Паразитофауна пушных и других плотоядных зверей в условиях хозяйств центральных областей Нечерноземья и Волго-Вятского региона / М. Д. Умурзаков, А. П. Коновалов, А. И. Сапожникова, М. Ш. Акбаев // Российский ветеринарный журнал. - 2013. - № 1. - С. 25-27.
206. Умурзаков, М. Д. Эймерии и эймериозы нутрий и норок: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.19 / М.Д. Умурзаков // Алма-Ата, 1987. - С. 20.
207. Утебаева, М. К. Кокцидии песцов (*Alopec lagopus*) Карагандинской области / М. К. Утебаева, Б. М. Салимбаева // Карагандинский университет. Караганда, 1987. - 10с.
208. Фоломеев, Ф. И. Фотоколориметрический микрометод определения SH-групп белка и небелковых соединений крови / Ф. И. Фоломеев // Лабораторное дело. - 1981. - №1. С. 33-35.
209. Хабриев, Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ : учеб. пособие / Р. У Хабриев ; под ред. Р.У. Хабриева ; 2-е издание. - Москва : Медицина, 2005. - 832 с.
210. Хаитов, Р. М. Иммунология : учеб. / Р. М. Хаитов, Г. А. Игнатьева, И. Г. Сидорович. - Москва : Медицина, 2000. - 432 с:
211. Хаусман, Н. К. Протозоология / Н. К. Хаусман ; пер. с нем. И. Б. Райкова. - Москва : Мир, 1988. - 10 с.
212. Хейсин, Е. М. Жизненные циклы кокцидий домашних животных / Е. М. Хейсин. - Ленинград : Наука, 1967. - С.149-151.
213. Хованских, А. Е. Биохимические основы паразито-хозяйственных взаимоотношений при кокцидиозах кур : автореф. дис. ...докт. биол. наук : 03.00.19 / А. Е. Хованских ; АН ЭССР. Совет по биол. наукам. - Таллин, 1974. -38 с.
214. Хованских, А. Е. Биохимия кокцидий и кокцидиозов / А. Е. Хованских; отв. ред. А. П. Бресткин. - Ленинград : Наука, 1984. - 192 с.
215. Храпай, В. А. Паразитофауна домашних и диких плотоядных животных юга России и меры борьбы с основными паразитами : автореф. дис. ... кандидат вет. наук : 03.02.11 / В. А. Храпай ; ФГБОУ ВПО «Московская

- государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина. - Москва, 2013. - 21 с.
216. Шаповалов, А. В. Эпизоотологические особенности бруцеллеза крупного рогатого скота в Ростовской области : автореф. дис. ... кандидата вет. наук : 16.00.03 / А. В. Шаповалов ; Ставроп. гос. аграр. ун-т. – Ставрополь, 2004. - 19 с.
217. Шемякова, С. А. Иммуитет при гельминтозах животных : учеб. пособие / С. А. Шемякова, М. Ш. Акбаев, Н. В. Есаулова. - Москва : ФГОУ ВПО МГАВМиБ, 2005. - 55 с.
218. Шицкова, А. П. Методы гигиенической и токсикологической оценки биологического действия пестицидов / А. П. Шицкова, О. Н. Елизарова, Л. В. Жидкова. - Москва : Медицина, 1977. - 200 с.
219. Шицкова, А. П. Общая концепция биологического действия факторов производственной и окружающей среды / А. П. Шицкова, С. И. Горшков // Воздействие факторов внешней среды на отдельные системы организма : сб. научн. тр. / НИИ гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана. - Москва, 1978. - С. 4-25.
220. Шульц, Р. С. Резервуарный паразитизм, его биологическое и практическое значение / Р. С. Шульц, Э. А. Давтян // Труды Института ветеринарии Казахского филиала ВАСХНИЛ. - 1956. - Т. 7. - С.154-166.
221. Шустрова, М. В. Чесоточные болезни и демодекозы животных разных видов: Эпизоотология, этиология, патогенез, разработка системы мероприятий по профилактике и ликвидации этих заболеваний в условиях Северо-Западного региона : автореф. дис. ... д-ра вет. наук : 16.00.03, 03.00.19 / М. В. Шустрова ; Санкт-Петербург. гос. акад. ветеринар. медицины. – Санкт-Петербург, 1996. - 40 с.
222. Якимов, В. Л. Кокцидии пушных зверей СССР / В. Л. Якимов // Природа, 1936. - № 2. - С. 25-32.
223. Якубовский, М. В. Иммуносупрессивное влияние на организм животных некоторых паразитов и химиотерапевтических средств / М. В. Якубовский // Ветеринарная медицина Беларуси. - 2001. - №1. - С. 18-21.

224. Якубовский, М. В. Современные проблемы иммунологии гельминтозов / М. В. Якубовский, Г. Н. Чистенко, В. Н. Горбачева, А. Л. Веденьков // Журнал «Медицинские новости». - 1997. - №4. - С.11-16.
225. Якубовский, М. В. Современные средства терапии и профилактики паразитарных болезней животных / М. В. Якубовский // Известия Академии аграрных наук Республики Беларусь. - 2000. - № 3. - С.77-82.
226. Янковский, А. В. Протисты / А. В. Янковский, Т. Г. Симдянов, Т.В. Бейер [и др.] // Руководство по зоологии / Санкт-Петербург. - 2007. - Том 2. - Часть 2. - С. 10-121.
227. Ятусевич, А. И. Пратазойныя захворванш сельскагаспадарчых жывёл / А.И. Ятусевич. – Минск: Ураджай, 1993. - 174 с.
228. Ятусевич, А. И. Кишечные паразитозы некоторых пушных зверей / А.И. Ятусевич, В.А. Герасимчик, Т.В. Медведская, В.А. Забудько, В.В., Петрукович // Тезисы докладов XI Междунар. конференции. УОП. - Киев, 1993. - С. 188.
229. Ятусевич, А. И. Лекарственные растения в системе мероприятий по профилактике паразитарных болезней / А. И. Ятусевич, В. Д. Авдаченко, О.С. Горлова [и др.] // Ветеринарный журнал Беларуси. - 2017. - № 2(7). - С.33-35.
230. Ятусевич, А. И. Протозойные болезни сельскохозяйственных животных / А. И. Ятусевич. - Витебск: ВГАВМ, 2006. - 223 с.
231. Ятусевич, А. И. Руководство по ветеринарной паразитологии / А. И. Ятусевич, В. Ф. Голат, А. Ф. Березовский и др. - Минск: Техноперспектива, 2007. - 481 с.
232. Ятусевич, А. И. Эймериозы и изоспороз свиней : автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 03.00.19 / А. И. Ятусевич ; Ленинград, 1989. -36 с.
233. Alverdy, J. C. The re-emerging role of the intestinal microflora in critical illness and inflammation: Why the gut hypothesis of sepsis syndrome will not go away / J. C. Alverdy, E. B. Chang // Journal Leuk Biol. - 2008. - № 83. - P.461-466.
234. Anderson, W. I. Demonstration of *Eimeria tenella* in bursa of Fabricius of chickens / W. I. Anderson, J. J. Giambrone, O. J. [et al.] // Avian Dis. - 1976. - Vol. 20, № 4. - P. 752-755.

235. Asmundsson, I. M. Five New Species of Coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) from Colubrid Snakes of Ecuador / I. M. Asmundsson, S. J. Upton // *Journal of Parasitology*. - 2001. - №87 (5). - P.1077-1081.
236. Astorga, F. International meeting on sarcoptic mange in wildlife, June 2018, Blacksburg, Virginia, USA / F. Astorga, S. Carver, E. S. Almberg [et al.] - Текст: электронный // *Parasites & Vectors*. - 2018. - Vol.11, iss. - P.1-10. - URL: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6090813/pdf/13071\\_2018\\_Article\\_3015.pdf](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6090813/pdf/13071_2018_Article_3015.pdf) (дата обращения: 10.01.2019).
237. Bahl, M. I. Freezing fecal samples prior to DNA extraction affects the Firmicutes to Bacteroidetes ratio determined by downstream quantitative PCR analysis / M. I Bahl, A. Bergström, T.R Licht // *FEMS Microbiology Letters*. - 2012. - Vol. 329, № 2. - P.193-197.
238. Bahl, M. I. The gastrointestinal tract of farmed mink (*Neovison vison*) maintains a diverse mucosa-associated microbiota following a 3-day fasting period / M. I. Bahl, A. S. Hammer, T. Clausen [et al.] - Текст : электронный // *Microbiology Open*. - 2017, 6:e434. - URL <https://doi.org/10.1002/mbo3.434>. (Дата обращения: 12.10.2018). - Режим доступа: электронный.
239. Balicka-Ramisz, A. The course and control of coccidiosis in goats / A. Balicka-Ramisz, B. Pilazczyk, V.S. Osipowicz // *Annals of animal science*. Krakow, 2004. - Vol.4, №1. - P.173-179.
240. Balzano, S. Protist diversity along a salinity gradient in a coastal lagoon / S. Balzano, E. Abs, S.C. Leterme // *Aquatic Microbial Ecology*. - 2015, Vol.74, № 3. - P. 263-277.
241. Barry, K. A. Adaptation of healthy adult cats to select dietary fibers in vivo affects gas and short-chain fatty acid production from fiber fermentation in vitro / K. A. Barry, B. J. Wojcicki, L. L. [et al.] // *J Anim Sci*. - 2011. - № 89. - P.3163-3169.
242. Baryshev, V.A. Use of a new phytosorption complex for diarrhea in animals / V.A. Baryshev, O.S. Popova, Yu.E. Kuznetsov [et al.] // *Research Journal of*

- Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. - 2018. - Vol. 9., № 6. - P. 1800-1806.
243. Becker, E. R. Coccidia and coccidiosis of domesticated game and laboratory animals and of man // Colleg. Press. Inc. Ames, Iowa. -1934. - P.1-147.
244. Bell, W. B. *Isospora laidlawi* in mink / W.B. Bell, W.Z. Trelkeld // The Cornell. Vet. - 1948. - Vol. 38. - P.3-6.
245. Bhat, S. A. Host immune responses to the itch mite, *Sarcoptes scabiei*, in humans / S. A. Bhat, K. E. Mounsey, X. Liu [et al.] // Parasit Vectors. - 2017. -№ 10. - P. 385-401.
246. Birch, J. M. Investigation of the viral and bacterial microbiota in intestinal samples from mink (*Neovison vison*) with pre-weaning diarrhea syndrome using next generation sequencing / J. M. Birch, K. Ullman T. Struve [et al.] // PLoS One. - 2018. - Vol. 13, № 10. - P. e0205890.
247. Bjornvad, C. R. Short- term fasting induces intra- hepatic lipid accumulation and decreases intestinal mass without reduced brush- border enzyme activity in mink (*Mustela vison*) small in-estine / C. R. Bjornvad, J. Elnif, P.T. Sangild // Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology. - 2004. - Vol.174, № 8. - P.625-632.
248. Bleavins, M. R. Feed consumption and food passage time in mink (*Mustela vison*) and European ferrets (*Mustela putorius furo*) / M. R. Bleavins, R. J. Aulerich // Lab Anim. - 1981. - № 31. - P.268-269.
249. Bornstein, S. *Sarcoptes scabiei* infections of the domestic dog, red fox and pig. Clinical and serodiagnostic studies: PhD Dissertation / S. Bornstein ; Swed-ish University of Agricultural Sciences, and the National Veterinary Institute. -Uppsala, Sweden, 1995. - 127 p.
250. Broadhurst, M. J. IL-22+ CD4+ T cells are associated with therapeutic *Trichuris trichiura* infection in an ulcerative colitis patient / M. J. Broadhurst, J. M. Leung, V. Kashyap [et al.] // Sci. Transl. Med. - 2010. - № 2. - P.60-88.

251. Cai, Z. Intestinal probiotics restore the ecological fitness decline of *Bactrocera dorsalis* by irradiation / Z. Cai, Z. Yao, Y. Li [et al.] // *Evol Appl.* - 2018. - № 11. - P.1946-1963.
252. Caporaso, J. G. QIIME allows analysis of high- throughput community sequencing data / J. G. Caporaso, J. Kuczynski, J. Stombaugh [et al.] // *Nature Methods.* - 2010. - Vol. 7, № 5. - P.335-336.
253. Carreno, R. A. Phylogenetic analysis of coccidia based on 18s rDNA sequence comparison indicates that *Isospora* is most closely related to *Toxoplasma* and *Neospora* // R. A. Carreno, B. E. Schnitzler, A. C. Jeffries [et al.] // *Journal of Eukaryotic Microbiology.* - 1998. - № 45. - P.184-188.
254. Cavalier-Smith, T. Gregarine site-heterogeneous 18S rDNA trees, revision of gregarine higher classification, and the evolutionary diversification of Sporozoa / T. Cavalier-Smith // *Eur. Journal Protistol.* - 2014. - № 50. - P.472-495.
255. Cetin, M. The changes in plasma vitamin C, ceruloplasmin and total protein levels of dog infected with gastrointestinal nematodes / M.Cetin, N. Gunes, L. Aydin // *Veterynarium (Turkey).* - 1995. - Vol. 6 (1-2). - P.77-78.
256. Chapman, H. D. A landmark contribution to poultry science prophylactic control of coccidiosis in poultry / H. D. Chapman // *Poultry Science.* - 2009. - №53. - P.137-144.
257. Chapman, H. D. Origins of coccidiosis research in the fowl the first fifty years / H. D. Chapman // *Avian Diseases.* - 2003. - № 47. - P.1-20.
258. Chen, T. L. Persistent gut barrier damage and commensal bacterial influx following eradication of *Giardia* infection in mice / T. L. Chen, S. Chen, H. Wu [et al.] // *Gut Pathog.* - 2013. - № 5. - P.126-138.
259. Christensen, E. Dietary Xylo- oligosaccharide stimulates intestinal bifidobacteria and lactobacilli but has limited effect on intestinal integrity in rats // E. Christensen, T. Licht, T. Leser [et al.] // *BMC Research Notes.* - 2014. - Vol. 7, № 1. P.660-674.

260. Cohen, S. B. Border maneuvers: deployment of mucosal immune defenses against *Toxoplasma gondii* / S. B. Cohen, E. Y. Denkers // *Mucosal Immunol.* - 2014. - № 7. - P.744-752.
261. Compo, N. R. Fecal bacterial microbiota of Canadian commercial mink (*Neovison vison*): Yearly, life stage, and seasonal comparisons / N. R. Compo, D. E. Gomez, B. Tapscott [et al.] // *PLoS One.* - 2018. - № 11. - P.1013-1711.
262. Craven, M. Inflammation drives dysbiosis and bacterial invasion in murine models of ileal Crohn's Disease / M. Craven, C. E. Egan, S. E. Dowd, S. P. McDonough [et al.] // *PLoS ONE.* - 2012. - № 7. - P.415-494.
263. Cristal, Z. Elucidation of complexity and prediction of interactions in microbial communities / Z. Cristal, Z. Livia, Z. Kerstin // *Microbial Biotechnology* published by John Wiley & Sons Ltd and Society for Applied Microbiology, *Microbial Biotechnology.* - 2017. - № 10. - P.1500-1522.
264. David, L. A. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome / L. A. David, C. F. Maurice, R. N. Carmody [et al.] // *Nature.* - 2014. - № 505(7484). - P.559-563.
265. Davies, S. F. *Coccidiosis* / S. F. Davies, L. P. Joyner, S. B. Kendall. - London : Oliver & Boyd, 1963. - 264 p.
266. Davis, C. L. Hepatic coccidiosis in mink / C. L. Davis, T. L. Chow, J. R. Gorham // *Veterin. Med.* - 1953. - Vol. 48, № 9. - P.371-374.
267. Derrien, M. *Akkermansia muciniphilagen. nov., sp. nov., a human intestinal mucin- degrading bacterium* / M. Derrien, E. E. Vaughan, C. M. Plugge [et al.] // *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* - 2004. - № 54. - P.1469-1476.
268. Dethlefsen, L. The Pervasive Effects of an Antibiotic on the Human Gut Microbiota, as Revealed by Deep 16S rRNA Sequencing / L. Dethlefsen, S. Huse, M. L. Sogin [et al.] // *PLoS Biology.* - 2008. - № 6(11). - P. 280.
269. Di Giancamillo A., Vitari F., Savoini G., Bontempo V., Bersani C., Dell'Orto V., et al. Effects of orally administered probiotic *Pediococcus acidilactici* on the

- small and large intestine of weaning piglets. A qualitative and quantitative micro-anatomical study. *Histol Histopathol.* 2008;23: 651-664. pmid:18366003.
270. Dineen, J. K. Immunological aspects of parasitism / J. K. Dineen // *Nature.* - 1963. - Vol. 48. - P.268-269.
271. Doflein, F. T. Lehrbuch der Protozoenkunde: eine Darstellung der Naturgeschichte der Protozoen mit besonderer Berücksichtigung der parasitischen und pathogenen Formen / F. T. Doflein. - Jena : Fischer, 1906. - 187 p.
272. Drews, J. A role for immune stimulation in the treatment of microbial infections / J. Drews // *Infection.* -1980. - Vol. 8. - P.2-4.
273. Dubey, J. P. Coccidiosis in the gallbladder of a goat / J. P. Dubey // *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* - 1986. - Vol. 53, №2 - P. 271-281.
274. Duszynski, D.W. The Biology and Identification of the Coccidia (Apicomplexa) of Carnivores of the World / D.W. Duszynski, J. Kvicerova, R. S. Seville. – Academic Press Published Date: Page Count. - 2018. - 315 p. (не по алфавиту)
275. Edgar, R. C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST / R.C. Edgar // *Bioinformatics.* - 2010, Vol. 26, № 19. - P. 2460-2461.
276. Edgar, R. C. SINTAX, a Simple Non-Bayesian Taxonomy Classifier for 16S and ITS Sequences / R. C. Edgar // *bioRxiv.* - 2016. - P. 074161.
277. Edgar, R. C. UNOISE2: Improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon reads / R. C. Edgar // *bioRxiv.* - 2016.
278. Edgar, R. C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads / R.C. Edgar // *Nature Methods.* - 2013, Vol. 10, № 10. - P. 996-998.
279. Eimer, T. Uber die ei- oder kugelformigen sogenannten Psorospermien der Wirbelthiere / T. Eimer. - Wurzburg : A. Studers, 1870. - 58 p.
280. El-Sherry, S. Divergent nuclear 18S rDNA paralogs in a turkey coccidium, *Eimeria meleagridis*, complicate molecular systematics and identification / S. El-Sherry, M. E. Ogedengbe, M. A. Hafeez [et al.] // *Int J Parasitol.* - 2013. - № 43. - P. 679-685.



281. Ericsson, A. C. Effects of vendor and genetic background on the composition of the fecal microbiota of inbred mice / A. C. Ericsson, J. W. Davis, W. Spollen [et al.] // *PLOS One*. - 2014. - №11. - P. 6704-6704.
282. Fadrosch, D. W. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumina MiSeq platform / D.W. Fadrosch, B. Ma, P. Gajer [et al.] // *Microbiome*. - 2014, Vol. 2, №6.
283. Finney, D. J. Probit analysis / D. J. Finney. – Cambridge: Cambridge University Press, 1971. - 338 p.
284. Finney, D. J. Statistical method in biological assay / D. J. Finney. – London: Griffin, 1982. - 58 p.
285. Foreyt, W. J. Prevalence of coccidia in domestic mink in Wisconsin / W. J. Foreyt, A. C. Todd // *Journal of Parasitology*. -1976. - Vol. 62. - P. 496.
286. Fox, Y. S. The Tasmanian devil microbiome-implications for conservation and management / Y., S. Fox, D. Pemberton [et al.] // *Microbiome*. - 2015.
287. Foxman, B. Conceptualizing human microbiota: from multicelled organ to ecological community / B. Foxman, D. Goldberg, C. Murdock [et al.] // *Interdiscip Perspect Infect Dis*. - 2008. - P.613-979.
288. Franzosa, E. A. Relating the metatranscriptome and metagenome of the human gut / E. A. Franzosa, X. C. Morgan, N. Segata [et al.] // *Proc Natl Acad Sci USA*. - 2014. -Vol.111, № 22. - P.2329-2338.
289. Fraser, T. A. Comparative diagnostics reveals PCR assays on skin scrapings is the most reliable method to detect *Sarcoptes scabiei* infestations / T. A. Fraser, A. Martin, A. Polking [et al.] // *Vet Parasitol*. - 2018. - № 251. - P.119-124.
290. Fraser, T. A. Mitochondrial genome sequencing reveals potential origins of the scabies mite *Sarcoptes scabiei* infesting two iconic Australian marsupials / T. A. Fraser, R. Shao, N. M. Fountain-Jones [et al.] // *BMC Evol Biol*. - 2017. - № 17. - P.233-242.
291. Garcia-Mazcorro, J. F. Abundance and short- term temporal variability of fecal microbiota in healthy dogs / J. F. Garcia-Mazcorro, S. E. Dowd, J. Poulsen [et al.] // *Microbiology Open*. - 2012. - Vol. 1, № 3. - P.340-347.

292. Gilbert, J. A. Microbial Metagenomics: Beyond the Genome / J. A. Gilbert, C. L. Dupont // Annual Review of Marine Science. - 2011. - Vol. 3, № 1. - P. 347-371.
293. Gorham, J. R. Intestinal coccidiosis in mink / J.R. Gorham, K.W. Hagen // Am. Fur Breeder. - 1970 - Vol. 43. - P.16.
294. Grafner, G. Hepatic Coccidiosis in mink caused by a newly identified species of coccidia, *Eimeria hiepei* n. sp. / G. Grafner, H. Graubmann, W. Dobbriner //11 Monatsschr Veterinaermed. - 1967. - Vol. 22. - P. 696-700.
295. Gugolek, A. Food transit time, nutrient digestibility and nitrogen retention in farmed and feral American mink (*Neovison vison*) - a comparative analysis / A. Gugolek, D. Zalewski, J. Strychalski [et al.] // Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition. - 2013. - Vol. 97, № 6.- P.1030-1035.
296. Haeckel, E. Generelle Morphologie der Organismen / E. Haeckel // Allgemeine Grundzüge der organischen Formen-Wissenschaft, mechanisch begründet durch die von C. Darwin reformirte Descendenz-Theorie. - Berlin, 1866. - Vol. 2. - P.462-574.
297. Hammer, A. S. Distemper virus as a course of central nervous disease and death in badgers (*Meles meles*) in Denmark / A. S. Hammer, T. H. Andersen, H. H Dietz [et al.] // Vet. Rec. - 2004. - Vol.154, № 17. - P.527-530.
298. Hammond, D. M. The Coccidia: *Eimeria*, *Isospora*, *Toxoplasma*, and related genera / D. M. Hammond, P. L. Long. - Baltimore, 1973. - 482 p.
299. Hansen, K. B. Parasites of minks and their control / K. B. Hansen // American Fur Breeder. - 1933. - Vol. 5. - P.5-7.
300. Hansen, N. E. The influence of sulfuric acid preserved herring on the passage time throu the gastrointestinal tract in mink / N. E. Hansen, V. Royal // Zeitschrift Fuer Tierphysiologie, Tierernaehrung und Futtermittelkunde (Germany, F.R.). - 1978. - № 40. - P.285-291.
301. Hasnain, S. Z. A new role for mucins in immunity: insights from gastrointestinal nematode infection / S. Z. Hasnain, A. L. Gallagher, R. K. Grencis [et al.] // Int. J. Biochem. Cell Biol. - 2013. - № 45. - P.364-374.

302. Heimesaat, M. M. Gram-negative bacteria aggravate murine small intestinal Th1-type immunopathology following oral infection with *Toxoplasma gondii* / M. M. Heimesaat, S. Bereswill, A. Fischer [et al.] // J. Immunol. - 2006. - № 177. - P. 8785-8795.
303. Hikosaka, K. Concatenated mitochondrial DNA of the coccidian parasite *Eimeria tenella* / K. Hikosaka, Y. Nakai, Y. I. Watanabe [et al.] // Mitochondrion. - 2011. - № 11. - P.273-278.
304. Hjulsager, C. K. Outbreaks of Aleutian mink disease in farmed mink (*Neovison vison*) in Denmark: molecular characterization by partial NS1 gene sequencing / C. K. Hjulsager, Ryt-Hansen // Proceedings of the XI th International Scientific Congress in Fur Animal Production. – Helsinki, Finland: Libris.Scientifur, 2016. - Vol. 40, № 3(4). - P.85-87.
305. Hsieh, T. C. iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers) / T. C. Hsieh, K. H. Ma, A. Chao // Methods in Ecology and Evolution. - 2016, Vol. 7, №12. - P. 1451-1456.
306. Hughes, J. B. The Application of Rarefaction Techniques to Molecular Inventories of Microbial Diversity / J.B. Hughes, J.J. Hellmann // Methods in Enzymology.-2005. - Vol.397. - P. 292 - 308.
307. Hunter, D. B. Diseases of the respiratory tract / D. B. Hunter, N. Lemieux // Mink...biology, health and disease. – Guelph: Graphic and Print Services Guelph University 2-3, - 1996. - 13p.
308. Isam, S. Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Denmark / S. Isam, C. Maddox-Hyttel, J. Monrad [et al.] // Veterinary Parasitology. - 2006. - № 139(1-3). - P.168-179.
309. Jensen, H. C. Coccidiosis hos mink / H. C. Jensen // Dansk Pelsdyraviculture - 1989. - Vol. 52, №8. - P.493.
310. Jolley, W. R. Coccidia, Giardia sp., and a Physalopteran nematode parasite from black-footed ferrets (*Mustela nigripes*) in Wyoming / W. R. Jolley, N. Kingston, E. S. Williams [et al.] // J Helminthol Soc Washingt. - 1994. - № 61. - P.89-94.

311. Kapel, C. M. O. Gastrointestinal helminths of Arctic foxes (*Alopex lagopus*) from different bioclimatological regions of Greenland / C. M. O Kapel, P. Nansen // Journal Parasitol. - 1996. - № 82(1). - P.17-24.
312. Kasiraj A. C. The effects of feeding and withholding food on the canine small intestinal microbiota / A. C. Kasiraj, J. Harmoinen, A. Isaiah [et al.] // FEMS Microbiology Ecology. - 2016. - Vol.92, № 6. - P.70-85.
313. Kinross, J. M. Gut microbiome-host interactions in health and disease / J. M. Kinross, A. W. Darzi, J. K. Nicholson // Genome Med. - 2011. - № 3. - P.14-21.
314. Klockiewicz, M. Preliminary epidemiological survey of infections by intestinal parasites in selected mink farms in Poland / M. Klockiewicz, T. Jakubowski, E. Janecka, E. Długosz [et al.] // Medycyna weterynaryjna. - 2013. - №69 (7). - P.444-447.
315. Klopfer, U. A note on Coccidiosis in minks / U. Klopfer, M. Neuman // Refuah. vet. - 1970. - Vol. 27, №. 3. - P.122-124.
316. Kohl, K. D. Unique and shared responses of the gut microbiota to prolonged fasting: a comparative study across five classes of vertebrate hosts / K. D. Kohl, J. Amaya, C. A. Passemment [et al.] // FEMS Microbiology Ecology. - 2014. - Vol. 90, № 3. - P.883-894.
317. Kuznetsov, Y. E. Evaluation of the effectiveness of drugs for mink eimeriosis / Y. E. Kuznetsov, L. M. Belova, N. A. Gavrilova [et al.] // Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences. - 2019. - Vol. 6, № 3. - P.6849-6854.
318. Kuznetsov, Y. E. Microbial community studying of the dogs' gastrointestinal tract by the T-RFLP molecular genetic method and assessing the natural resistance of animals / Y. E. Kuznetsov, S. V. Engashev, E. S. Engasheva [et al.] // Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences. - 2018. - Vol. 9, № 5. - P.1652-1660.
319. Labbé, A. Sporozoa / A. Labbé. - Berlin : R. Friedländer und Sohn, 1899. - 180 p.
320. Lang, T. Basic statistical reporting for articles published in clinical medical journals: the SAMPL Guidelines / T. Lang, D. Altman // Smart P., Maisonneuve H.,

Polderman A. (eds). - Science Editors' Handbook, European Association of Science Editors, 2013. - This document may be reprinted without charge but must include the original citation.

321. Langille, M. G. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences / M. G. Langille, J. Zaneveld, J. G. [et al.] // Nat Biotechnol. - 2013. - Vol. 31, № 9. - P.814-821.

322. Leger, A. Filaire à embryons sanguicoles de l'Hyaena crocuta Erxleben / A. Leger // Bull. Soc. Path. Exot. - 1911. - № 4. P.629-631.

323. Leuckart, R. Allgemeine Naturgeschichte der Parasiten mit besonderer Berücksichtigung der bei dem Menschenschmarotzen den Arten. / R. Leuckart. - Leipzig - Heidelberg: C. Winter, 1879. - 540 p.

324. Levine, N. D. Eimeria and Isospora of the mink (*Mustela vison*) / N. D. Lvine // J. Parasitol. - 1948. - Vol. 34. - P.486-492.

325. Levine, N. D. Taxonomy and life cycles of coccidia / N. D. Levine // The biology of the coccidia. - Ed. P. L. Long. Baltimore, 1982. - P.1-33.

326. Levine, N. D. The coccidian parasites (Protozoa, Sporozoa) of ruminants / N. D. Levine, V. Ivens. - Urbana: University of Illinois Press, 1970. - 273 p.

327. Li, H. Environmental filtering increases with elevation for the assembly of gut microbiota in wild pikas // H. Li, Z. Rui, Z. Jianxiao [et al.] // Microbial Biotechnology published by John Wiley & Sons Ltd and Society for Applied Microbiology., Microbial Biotechnology. - 2019. - № 12 (5). - P.976-992.

328. Lim, E. K. A method for the evaluation and tolerance by the determination of acute and subacute medium effective doses / E. K. Lim, K. C. Rink, H. G. Class // Arch. Int. Pharmacol. et Ther. -1961. -Vol. 130. - P.336-339.

329. Löliger, H.C. Bakterielle infektionen / H. C. Löliger. - Pelztierkrankheiten Jena: VEB Gustav Fischer Verlag, 1970. - P. 55-105.

330. Luty, T. Prevalence of species of Toxocara in dogs, cats and red foxes from the Poznan region, Poland / T. Luty // J. Helminthol. - 2001. - № 75. - P.153-156.

331. Manning, D. D. Derivation of gnotobiotic ferrets: perinatal diet and hand-rearing requirements / D. D. Manning, J. A. Bell // *Lab Anim Sci.* - 1990. - № 40. - P. 51-55.
332. Mappley, L. J. Oral treatment of chickens with *Lactobacillus reuteri* LM1 reduces *Brachyspira pilosicoli*-induced pathology / L. J. Mappley, M. A. Tchorzewska, A. Nunez [et al.] // *Journal Med Microbiol.* - 2013. - № 62 (Pt 2). - P.287-296.
333. Matsubayashi, M. Molecular characterization of crane coccidia, *Eimeria gruis* and *E. reichenowi*, found in feces of migratory cranes / M. Matsubayashi, K. Takami, N. Abe [et al.] // *Parasitol Res.* - 2005. - № 97. - P.80-83.
334. Meijer, T. The impact of maternal experience on post-weaning survival in an endangered arctic fox population / T. Meijer, K. Norén, A. Angerbjörn // *Eur J Wildl Res.* Some intestinal parasites of arctic fox, Banks island, N.W.T. *Can J Comp Med.* - 2010. - № 43. - P.229-230.
335. Meyer, C. Dictionnaire des Sciences Animales / C. Meyer. - Montpellier: France, Cirad.-ed. sc., 2018. - URL: <http://dico-sciences-animales.cirad.fr/> (дата обращения: 17.04.2019). - Текст: электронный.
336. Middelbos, I. S. Phylogenetic characterization of fecal microbial communities of dogs fed diets with or without dietary fiber using 454 pyrosequencing / I. S. Middelbos, B. M. Vester Boler, A. Qu [et al.] // *PLOS One.* - 2010. - Vol.5, № 3. - P.1-9.
337. Minchin, E. A. The Sporozoa / *Treatise on Zoology. Introduction and Protozoa* ; E. R. Lankester (ed). - London : Adam & Charles Black, 1903. - 231 p.
338. Moretta, L. Expression of a receptor for Jg M by human T cells in vitro / L. Moretta, M. Ferrarini, M. Mingari [et al.] // *Eur. J. Immunol.* - 1975. - Vol. 5. - P. 565-570.
339. Myers, G. H. Coccidial infection in ranch mink / G. H. Myers, W. J. Foreyt, A. C. Todd // *Am. Veterinary Med.* -1980. - Vol. 177, № 9. - P. 849-851.
340. Nizza, S. Fecal microbiota and antibiotic resistance in ferrets (*Mustela putorius furo*) from two captive breeding facilities in Italy / S. Nizza, F. Rando, F.

- Fiorito [et al.] // Research in Veterinary Science. - 2014. - Vol. 96, № 3. - P. 426-428.
341. Ogedengbe, M. E. Complete mitochondrial genome sequences from five *Eimeria* species (Apicomplexa; Coccidia; Eimeriidae) infecting domestic turkeys / M. E. Ogedengbe, S. El-Sherry, J. Whale [et al.] // Parasit Vectors. - 2014. - 7:335. doi: 10.1186/1756-3305-7-335.
342. Ogedengbe, M. E. DNA Barcoding of Apicomplexa: Mitochondrial Evolution across the Phylum : partial fulfillment of requirements for the degree of Doctor of Philosophy in Pathobiology / M. E. Ogedengbe ; University of Guelph. – Guelph, Ontario, Canada, 2015. - 303 p.
343. Ogilvie, B. M. *Nippostrongylus brasiliensis*: a review of immunity and host-parasite relationship in the rat / B. M. Ogilvie, E.V. Jones // Experimental parasitology. Parasitological review. -1971. - P. 36-39.
344. Oldfield, J. E. Fur Animal Research Published by Mink Farmers' / J. E. Oldfield // Research Foundation, a Committee of Fur Commission U.S.A. - 2005. - Vol. 13, № 3. - P. 236-245.
345. Pastor, A. R. Investigating enteric coccidiosis in the black-footed (*Mustela nigripes*) and domestic ferret (*Mustela putorius furo*) / R. A. Pastor – University of Guelph, 2017. - 191 c.
346. Pedersen, K. Lactic acid bacteria for mink. Colonization and persistence of *Enterococcus faecium* Cernelle 68 in the digestive tract of mink / K. Pedersen, M. Jorgensen // Acta Veterinaria Scandinavica. -1992. - Vol. 33, № 1. - P. 95-103.
347. Pedregosa, F. Scikit-learn: Machine Learning in Python / F. Pedregosa, G. Varoquaux, A. Gramfort [et al.] // Journal of Machine Learning Research. - 2011, Vol. 12, № 24. - pp. 2825-2830.
348. Pellerdy, L. P. Coccidia and Coccidiosis / L. P. Pellerdy // Academiai Kiado, D. Budapest. - 1974. - P. 13-44; 157; 645-653 (2nd edition).
349. Pellerdy, L. P. Coccidia and coccidiosis / L. P. Pellerdy // Acad Kiado Budapest, 1965. - P.157; 645-657 (1st edition).

350. Petersen, H. H. Morphological and molecular characterisation of *Eimeria vison* -like oocysts (Apicomplexa: Eimeriidae) in farmed mink (*Neovison vison*) in Denmark / H. H. Petersen, R. Yang, M. Chriél [et al.] // Parasitol Res. - 2018.- 117: 2933. DOI: 10.1007/s00436-018-5989-1.
351. Pike, N. Using false discovery rates for multiple comparisons in ecology and evolution / N. Pike, // Methods in Ecology and Evolution. - 2011. - Vol. 2, № 3. - P. 278-282.
352. Rajilić-Stojanović, M. The first 1000 cultured species of the human gastrointestinal microbiota / M. Rajilić-Stojanović, W. M. de Vos // FEMS Microbiology Reviews. - 2014. - Vol. 38, № 5. - P. 996-1047.
353. Rajković-Janje, R. Prevalence and seasonal distribution of helminth parasites in red foxes (*Vulpes vulpes*) from the Zagreb County (Croatia) / R. Rajković-Janje, A. Marinculić, S. Bosnić [et al.] // Zeitschrift für Jagdwissenschaft. - 2002. - Vol. 48, № 3. - P.151-160.
354. Rajković-Janje, R. Sarcocystis sp. in red foxes (*Vulpes vulpes*) from northern Croatia / R. Rajković-Janje, M. Sabolić, S. Bosnić [et al.] // European Journal of Wildlife Research. - 2004. - Vol. 50, № 2. - P.95-96.
355. Razyarova, L. Way of stimulation reproductive functions of minks / L. Razyarova, N. A. Balakirev // Вестник орловского государственного аграрного университета. - 2013. - № 5 (44). - С.67-69.
356. Robertson, B. D. *Toxocara canis*: proteolytic enzymes secreted by the infective larvae in vitro / B. D. Robertson, A. T. Bianco, J. H. McKerrow [et al.] // Experimental-parasitology (USA). - 1989. - Vol. 69, №1. - P.30-36.
357. Saeed, I. Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Denmark / I. Saeed, C. Maddox-Hyttel, J. Monrad [et al.] // Veterinary Parasitology. - 2006. - Vol. 139, № 1-3. - P.168-179.
358. Saeed, I. *Toxocara canis* in experimentally infected silver and arctic foxes / I. Saeed, K. Taira, C. M. O. Kapel // Parasitol Res. - 2005. - № 97. - P. 160-166.
359. Schillinger, G. Isolation and characterization of parasites and host cell ghosts from erythrocytes infected with *Plasmodium chabaudi* / G. Schillinger, F.



- Wunderlich, M. Helwig [et al.] // *Mol Biochem Parasitol.* - 1987. - Vol. 23, № 2. - P.103-158.
360. Shants, P. M. *Toxocara larva migrans* / P. M. Shants, J. K. Stehr-Green // *Journal-of-the-American-Veterinary-Medical-Association (USA).* -1988. - Vol. 192, № 1. - P.28-32.
361. Sibbald, T. R. The rate of passage of feed through the digestive tract of the mink / T. R. Sibbald, D. G. Sinclair, E. V. Evans [et al.] // *Can Journal Biochem. Physiol.* - 1962. - № 40. - P.1391-1394.
362. Skirnisson, K. Parasites of the arctic fox (*Alopex lagopus*) in Iceland / K. Skirnisson, M. Eydal, E. Gunnarsson [et al.] // *Journal of the Wildlife Diseases.* - 1993. - Vol. 25, № 3. - P.440-446.
363. Sledge, D. G. Outbreaks of severe enteric disease associated with *Eimeria furonisinfection* in ferrets (*Mustela putorius furo*) of 3 densely populated groups / D. G. Sledge, S. R Bolin, A. Lim [et al.] // *Journal Am Vet Med Assoc.* - 2011. - № 239. - P.1584-1588. doi: 10.2460/javma.239.12.1584.
364. Smielewska-Los, E. Infection of newborn foxes with canine herpes-virus, *Micoplasma* sp. and *Toxocara canis* / E. Smielewska-Los, W. Turniak // *Medycyna - Weterynaryjna (Poland).* - 1998. - Vol. 54, № 4. - P.161-167.
365. Solaiman, M. N. Endoparasites of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the red fox (*Vulpes vulpes*) in Denmark 2009-2012 / M. N. Solaiman, Al-Sabia [et al.] // *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife.* - 2013. - Vol. 2, № 17. - P.144-151.
366. Soltys, J. Effect of glucan immunomodulatory on the immune response and larval burdens in mice with experimental toxocarosis / J. Soltys, Z. Borosková, P. Dubinsky [et. al.] // *Applied-Parasitology (Germany).* - 1996. - Vol. 54, № 4. - P. 161-168.
367. Sonoyama, K. Response of gut microbiota to fasting and hibernation in Syrian hamsters / K. Sonoyama, R. Fujiwara, N. Takemura [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology.* - 2009. - № 75(20). - P.6451-6456. doi: 10.1128/AEM.00692-09

368. Sreter, T. Ectoparasite infestations of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Hungary / T. Sreter, Z. Szell, I. Varga // *Veterinary Parasitology*. - 2003. - № 115. - P.349-354.
369. Suchodolski, J. S. Canine gastroin-testinal microbiome in health and disease / J. S. Suchodolski, K. Simpson // *VeterinaryFocus*. - 2013. - № 23. - P.22-28.
370. Swanson, K. S. Phylogenetic and gene-centric metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans and mice / K. S. Swanson, S. E. Dowd, J. S. Suchodolski [et al.] // *ISME Journal*. - 2011. - № 5. - P.639-649.
371. Szymeczko, R. Protein digestion in mink / R. Szymeczko, A. Skrede // *Acta Agriculturae Scandinavica*. -1990. - № 40(2). - P.189-200.
372. Taggart, H. S. Coccidia from mink in Britain / H. S. Taggart // *Journal Parazitology*. - 1960. - Vol. 46, № 2. - P.161.
373. Thompson, G. R. Gastrointestinal structure and function in germ-free or gnotobiotic animals / G. R. Thompson, P. C. Trexler // *Gut*. - 1971. - № 12. - P. 230-235.
374. Timmerman, H. M. Mortality and growth performance of broilers given drinking water supplemented with chicken-specific probiotics / H. M. Timmerman, A. Veldman, E. van den Elsen [et al.] // *Poult. Sci.* - 2006. - № 85. - P.1383-1388.
375. Tsubokawa D. Induction of Sda-sialomucin and sulfated H-sulfomucin in mouse small intestinal mucosa by infection with parasitic helminth / D. Tsubokawa, K. Ishiwata, Y. Goso [et al.] // *Exp. Parasitol.* - 2015. - № 153. - P.165-173.
376. Tun, H. M. Gene-centric metagenomics analysis of feline intestinal microbiome using 454 junior pyrosequencing / H. M. Tun, M. S. Brar, N. Khin [et al.] // *Journal Microbiol. Methods*. - 2012. - № 88. - P. 369-376.
377. Turner, J. E. IL-22 mediates goblet cell hyperplasia and worm expulsion in intestinal helminth infection / J. E. Turner, B. Stockinger, H. Helmbly // *PLoS Pathog.* -2013. - 9:e1003698.
378. Velasquez-Manoff, M. Gut microbiome: The peacekeepers/ M. Velasquez-Manoff, // *Nature*. - 2015. - 518: S3-S11.

379. Verdugo, C. Sarcoptic mange in a South American gray fox (Chilla Fox; *Lycalopex griseus*) / C. Verdugo, A. Espinoza, M. Moroni [et al.] // Chile. Journal Wildl Dis. - 2016. - № 52. - P.738-741.
380. Vulfson, L. Assessment of the aerobic faecal microflora in mink (*Mustela vison* Schreiber) with emphasis on *Escherichia coli* and *Staphylococcus intermedius* / L. Vulfson, K. Pedersen, M. Chriel [et al.] // Vet Microbiol. - 2003. - № 93. - P.235-245.
381. Vulfson, L. Serogroups and antimicrobial susceptibility among *Escherichia coli* isolated from farmed mink (*Mustela vison* Schreiber) in Denmark / L. Vulfson, K. Pedersen, M. Chriel [et al.] // Veterinary Microbiology. - 2001. - № 79(2). - P.143-153.
382. Wandler, A. Sarcoptic mange in foxes in Switzerland / A. Wandler, A. Kappeler, S. Capt // Rev. Ecol. -1985. - Vol. 40, № 2. - P.240-244.
383. Wang, Q. Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy / Q.Wang, G. M. Garrity, J. M. Tiedje, J. R. Cole // Applied and Environmental Microbiology. - 2007, Vol. 73, № 16. - P. 5261-5267.
384. Wenyon, C. M. Protozoology. A Manual for Medical Men / C. M. Wenyon // Veterinarians and Zoologists. - 1926. - № 2. - P.218-234.
385. Wilcox, S. J. Something for Everyone: A Review of «The Biology and Identification of the Coccidia (Apicomplexa) of Carnivores of the World» // The American midland naturalist. - 2019. - Vol. 181, № 1. - P.143-145.
386. Williams, B. H. Biliary Coccidiosis in a Ferret (*Mustela putorius furo*) / B. H. Williams, M. J. Chimes, C. H. Gardine // Vet. Pathol. - 1996. - № 33. - P.437-439.
387. Williams, C. The gastrointestinal bacteria of mink (*Mustela vison*): Influence of age and diet / C. Williams, J. Elnif, R. K. Buddington // Acta Vet Scand. - 1998. - № 39. - P. 473-482.
388. Wolter, R. Die endoparasiten der farmnerze in gebiet der DDR / R. Wolter // Biol. Beitr. - 1961. - Vol. 1. - P.137.

389. Yi-Fan, Y. Emendation of 2 Isospora Species (Apicomplexa: Eimeriidae) Infecting the Steppe Polecat, *Mustela eversmanii* Lesson, 1827, in China, to the Genus *Cystoisospora* (Apicomplexa: Sarcocystidae) / Y. Yi-Fan, C. Le, D. Yin [et al.] // *Comp Parasitol.* - 2012. - № 79. - P.147-152.
390. Yilmaz, P. The SILVA and "All-species Living Tree Project (LTP)" taxonomic frameworks / P. Yilmaz, L.W. Parfrey, P. Yarza [et al.] // *Nucleic acids research.* - 2014, Vol. 42, № D1. - P. D643-D648.
391. Zhao, H. Mink (*Mustela vison*) gut microbial communities from Northeast China and its internal relationship with gender and food additives / H. Zhao, W. Sun, Z. Wang [et al.] // *Curr Microbiol.* - 2017.

**ПРИЛОЖЕНИЕ**

ВСЕРОССИЙСКИЙ  
ВЫСТАВОЧНЫЙ  
ЦЕНТР



УДОСТОВЕРЕНИЕ

№ 94

ВСЕРОССИЙСКИЙ  
ВЫСТАВОЧНЫЙ ЦЕНТР

*Награждает*

МЕДАЛЬЮ

«За успехи в научно-  
техническом творчестве»

Кузнецова

Юрия

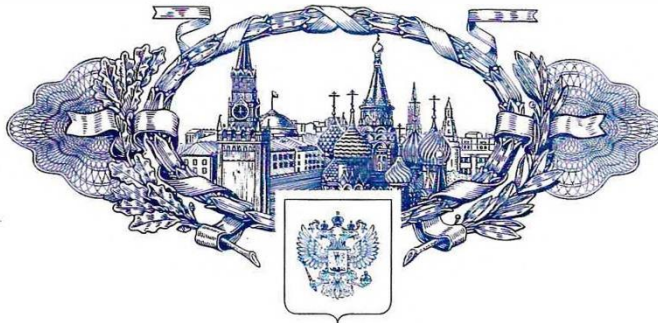
Евгеньевича

Постановление от 23.06.13 г. № 10

г. Москва



## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2472154

**ЖИДКОСТЬ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ООЦИСТ КОКЦИДИЙ,  
ЦИСТ БАЛАНТИДИЙ И ЖИАРДИЙ, ЯИЦ ГЕЛЬМИНТОВ  
РАЗНЫХ КЛАССОВ, КЛЕЩЕЙ, НАСЕКОМЫХ, ИХ  
ОТДЕЛЬНЫХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ**

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины" (ФГБОУ ВПО СПГАВМ) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2010153464

Приоритет изобретения 27 декабря 2010 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 10 января 2013 г.

Срок действия патента истекает 27 декабря 2030 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Б.П. Симонов



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** <sup>(11)</sup> **2 472 154** <sup>(13)</sup> **C2**

(51) МПК  
G01N 33/48 (2006.01)  
A61D 99/00 (2006.01)

**(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2010153464/13, 27.12.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
27.12.2010

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.12.2010

(43) Дата публикации заявки: 10.07.2012 Бюл. № 19

(45) Опубликовано: 10.01.2013 Бюл. № 1

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: Метод Дарлинга (1911). RU 2139047 C1,  
10.10.1999. ВУ 12017 C1, 30.06.2008. RU  
2386416 C2, 20.04.2010. RU 2371719 C2,  
27.01.2009.

Адрес для переписки:

192131, Санкт-Петербург, ул. Бабушкина, 52,  
кв. 79, Л.М. Беловой

(72) Автор(ы):

Белова Лариса Михайловна (RU),  
Гаврилова Надежда Алексеевна (RU),  
Пудовкин Денис Николаевич (RU),  
Токарев Антон Николаевич (RU),  
Кузнецов Юрий Евгеньевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
профессионального образования "Санкт-  
Петербургская государственная академия  
ветеринарной медицины" (ФГБОУ ВПО  
СПГАВМ) (RU)

(54) ЖИДКОСТЬ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ООЦИСТ КОКЦИДИЙ, ЦИСТ БАЛАНТИДИЙ И  
ЖИАРДИЙ, ЯИЦ ГЕЛЬМИНТОВ РАЗНЫХ КЛАССОВ, КЛЕЩЕЙ, НАСЕКОМЫХ, ИХ  
ОТДЕЛЬНЫХ СТАДИЙ РАЗВИТИЯ

(57) Формула изобретения

Жидкость для диагностики ооцист кокцидий, цист балантидий и жиардий, яиц  
гельминтов разных классов, клещей, насекомых, их отдельных стадий развития  
содержит следующие компоненты: первый - вода - 48% и натрия хлорид - 25%,  
второй - также в виде жидкости, содержащей: лаурилсульфат натрия - 16,3%,  
насыщенный раствор соли, полиэтиленгликоль - 10%, бензоат натрия - 0,7%, при этом  
первый и второй компоненты смешивали между собой в соотношении 1:1, при этом  
жидкость является гомогенной, опалесцирующей, полупрозрачной, сиропобразной  
консистенции.

RU 2 4 7 2 1 5 4 C 2

RU 2 4 7 2 1 5 4 C 2



## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ  
№ 2568906

**СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ПАРАЗИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ПЛОТОЯДНЫХ  
ЖИВОТНЫХ**

Патентообладатель(ли): *Общество с ограниченной  
ответственностью "Научно-внедренческий центр  
Агроветзащита" (RU), Енгашев Сергей Владимирович (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2014152771

Приоритет изобретения 25 декабря 2014 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре  
изобретений Российской Федерации 23 октября 2015 г.

Срок действия патента истекает 25 декабря 2034 г.

*Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности*

*Г.П. Излиев*



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11) 2 568 906 (13) C1

(51) МПК  
A61K 31/35 (2006.01)  
A61P 33/00 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21)(22) Заявка: 2014152771/15, 25.12.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
25.12.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 25.12.2014

(45) Опубликовано: 20.11.2015 Бюл. № 32

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: МУРОМЦЕВ А.Б. И ДР.  
Эффективный отечественный  
противопаразитарный препарат монизен в  
пантовом оленеводстве//Международный  
вестник ветеринарии, 2012. №3. " с. 17-20. RU  
2155052 C1, 27.08.2000. KR 20030090866 A,  
01.12.2003.

Адрес для переписки:

129329, Москва, ул. Кольская, 1, стр. 1, ООО  
"Научно-внедренческий центр "Агроветзащита",  
А.И. Филипповой

(72) Автор(ы):

Енгатев Сергей Владимирович (RU),  
Енгатева Екатерина Сергеевна (RU),  
Кузнецов Юрий Евгеньевич (RU),  
Кузнецова Надежда Викторовна (RU),  
Даугалисва Эмма Хасановна (RU),  
Гаврилова Надежда Алексеевна (RU),  
Мелнис Райтис Иварович (RU),  
Ахбасв Рамазан Магомедович (RU),  
Папкин Александр Васильевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Общество с ограниченной ответственностью  
"Научно-внедренческий центр  
Агроветзащита" (RU),  
Енгатев Сергей Владимирович (RU)(54) СПОСОБ ЛЕЧЕНИЯ ПАЗАРИТАРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И  
ПЛОТОЯДНЫХ ЖИВОТНЫХ

## (57) Формула изобретения

1. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных, включающий пероральное введение препарата из группы авермектинов, отличающийся тем, что животным задают перорально с водой для поения 4%-ный раствор ивермектина на полиэтиленгликоле 400 в дозе 0,01-0,03 мл на кг массы.

2. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных по п. 1, отличающийся тем, что птице и свиньям 4%-ный раствор ивермектина на полиэтиленгликоле 400 задают перорально индивидуально или групповым способом в суточной дозе 0,01 мл на 1 кг массы, при этом выпаивают приготовленный лечебный раствор при нематодозах однократно, при арахноэнтомозах - двукратно с интервалом 14 суток.

3. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных по п. 1, отличающийся тем, что при чешуйчатой, ювенильной и генерализованной формах демодекоза, а также при саркоптозе 4%-ный раствор ивермектина на полиэтиленгликоле 400 плотоядным животным задают перорально через 1-1,5 часа после еды один раз в день через два дня на третий в количестве 3-10 доз на курс.



4. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных по п. 1, отличающийся тем, что при генерализованной форме демодекоза рецидивирующего типа 4% раствор ивермектина на полиэтиленгликоле 400 задают плотоядным животным один раз в день каждый день в течение 30 дней.

5. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных по п. 1, отличающийся тем, что в случае необходимости дополнительно плотоядным животным проводят неспецифическую и иммунокорректирующую терапию.

6. Способ лечения паразитарных болезней сельскохозяйственных и плотоядных животных по п. 5, отличающийся тем, что в качестве неспецифической терапии животным местно на пораженные участки кожи наносят амитразин или смазывают пораженные участки кожи маслом персика с добавлением масла лаванды, кроме того, один раз в неделю купают животных с шампунем на хлоргексидине, а в качестве иммунокорректирующей терапии животным вводят риботан внутримышечно или генферон в форме свечей.

RU 2568906 C1

## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ

№ 166382

УСТРОЙСТВО ДЛЯ ВЗЯТИЯ СОСКОБА С КОЖИ  
ЖИВОТНОГО

Патентообладатель(ли): *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины (ФГБОУ ВПО СПбГАВМ) (RU)*

Автор(ы): *см. на обороте*

Заявка № 2016108097

Приоритет полезной модели 04 марта 2016 г.

Зарегистрировано в Государственном реестре полезных моделей Российской Федерации 02 ноября 2016 г.

Срок действия патента истекает 04 марта 2026 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Ивлиев* Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) RU<sup>(11)</sup> 166 382<sup>(13)</sup> U1(51) МПК  
A61D 1/00 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ ОПИСАНИЯ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2016108097/13, 04.03.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
04.03.2016

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 04.03.2016

(45) Опубликовано: 20.11.2016 Бюл. № 32

Адрес для переписки:

196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5,  
ФГБОУ ВПО СПбГ АВМ, Сафонову Ю.К.

(72) Автор(ы):

Белова Лариса Михайловна (RU),  
Кузнецов Юрий Евгеньевич (RU),  
Кузнецова Надежда Викторовна (RU),  
Гаврилова Надежда Алексеевна (RU),  
Токарев Антон Николаевич (RU),  
Ширяева Вера Александровна (RU)

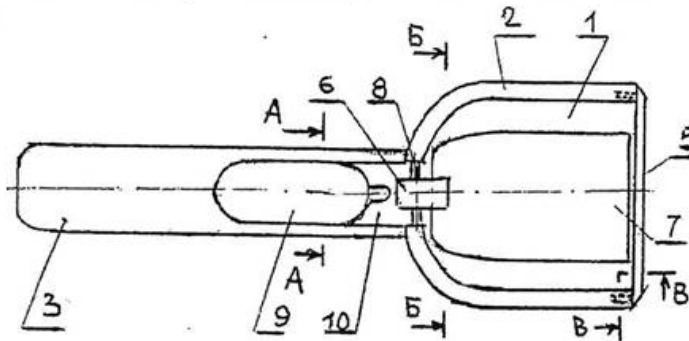
(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
профессионального образования Санкт-  
Петербургская государственная академия  
ветеринарной медицины (ФГБОУ ВПО  
СПбГ АВМ) (RU)

(54) УСТРОЙСТВО ДЛЯ ВЗЯТИЯ СОСКОБА С КОЖИ ЖИВОТНОГО.

(57) Формула полезной модели

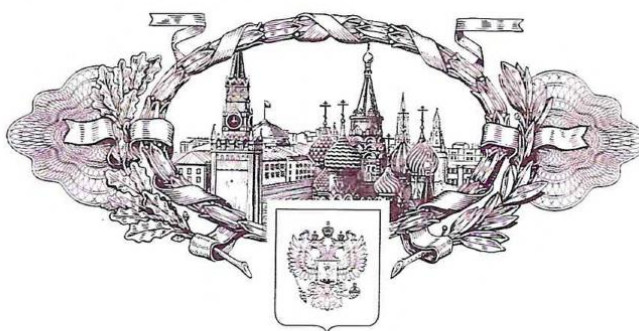
Устройство для взятия соскоба с кожи животного, включающее корпус с жестко закрепленной с ним рукояткой, в котором закреплен нож, отличающийся тем, что корпус выполнен с буртиками и передняя часть его снабжена направляющими для установки ножа, а рукоятка снабжена выемкой для размещения сосуда с просветляющей жидкостью и соединена с держателем покровного стекла.



Фиг.1



## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ

№ 170610

## Устройство для взятия соскоба с кожи животного

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины (RU)*

Авторы: *Кузнецов Юрий Евгеньевич (RU), Белова Лариса Михайловна (RU), Кузнецова Надежда Викторовна (RU)*

Заявка № 2016148746

Приоритет полезной модели 12 декабря 2016 г.


Дата государственной регистрации в

Государственном реестре полезных моделей Российской Федерации 02 мая 2017 г.

Срок действия исключительного права

на полезную модель истекает 12 декабря 2026 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

 Г.П. Ивлиев



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **170 610** (13) **U1**(51) МПК  
A61D 1/00 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ**

(21)(22) Заявка: 2016148746, 12.12.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
12.12.2016

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 12.12.2016

(45) Опубликовано: 02.05.2017 Бюл. № 13

Адрес для переписки:

196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5,  
ФГБОУ ВО СПбГАВМ, Сафонову Ю.К.

(72) Автор(ы):

Кузнецов Юрий Евгеньевич (RU),  
Белова Лариса Михайловна (RU),  
Кузнецова Надежда Викторовна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования Санкт-Петербургская  
государственная академия ветеринарной  
медицины (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: SU 1576158 A1, 07.07.1990. SU  
131857 A1, 10.10.1960. SU 1360723 A1,  
23.12.1987. CN 201033105 Y, 12.03.2008.

(54) Устройство для взятия соскоба с кожи животного

(57) Формула полезной модели

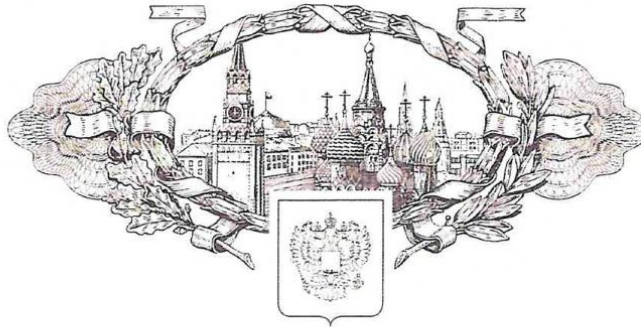
Устройство для взятия соскоба с кожи животного, включающее корпус с жестко закрепленной с ним рукояткой, в котором закреплен нож, причем корпус выполнен с буртиками и передняя часть его снабжена направляющими для установки ножа, а рукоятка снабжена выемкой для размещения сосуда с просветляющей жидкостью и соединена с держателем покровного стекла, отличающееся тем, что в направляющих установлена с возможностью перемещения П-образная проволочная петля.

RU 170610 U1

RU 170610 U1



## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ

№ 180046

## ЧАШКА ПЕТРИ

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины (RU)*

Авторы: *Белова Лариса Михайловна (RU), Рязанцева Лариса Тихоновна (RU), Гаврилова Надежда Алексеевна (RU), Кузнецов Юрий Евгеньевич (RU), Петрова Марина Сергеевна (RU)*

Заявка № 2017139607

Приоритет полезной модели 14 ноября 2017 г.

Дата государственной регистрации в Государственном реестре полезных моделей Российской Федерации 31 мая 2018 г.

Срок действия исключительного права на полезную модель истекает 14 ноября 2027 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

*Г.П. Ивлиев* Г.П. Ивлиев





РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



(19) RU (11)

180 046 (13) U1

(51) МПК  
C12M 1/22 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК  
C12M 1/22 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017139607, 14.11.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
14.11.2017Дата регистрации:  
31.05.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 14.11.2017

(45) Опубликовано: 31.05.2018 Бюл. № 16

Адрес для переписки:

196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5,  
ГФГБОУ ЧПО СПбГАВМ, Сафонову Ю.К.

(72) Автор(ы):

Белова Лариса Михайловна (RU),  
Рязанцева Лариса Тихоновна (RU),  
Гаврилова Надежда Алексеевна (RU),  
Кузнецов Юрий Евгеньевич (RU),  
Петрова Марина Сергеевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования Санкт-Петербургская  
государственная академия ветеринарной  
медицины (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 69066 U1, 10.12.2007. RU 171966  
U1, 22.06.2017. RU 173302 U1, 21.08.2017. RU  
2426592 C2, 20.08.2011.

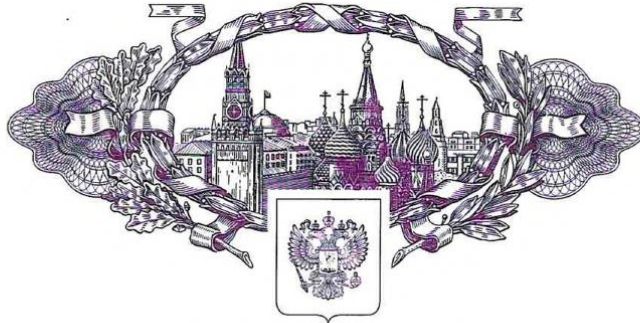
(54) ЧАШКА ПЕТРИ

(57) Формула полезной модели

Чашка Петри для культивирования микроорганизмов, состоящая из двух выполненных из прозрачной пластмассы цилиндрических разных по размерам емкости и крышки, где с внутренней боковой поверхности крышки расположены напротив друг друга два выступа, а на наружной боковой поверхности емкости напротив друг друга - два паза, выступы расположены эквидистантно относительно пазов и имеют цилиндрическую форму с диаметром равным ширине пазов, причем пазы выполнены с возможностью вставления в них выступов с обеспечением плотного прилегания крышки к емкости, отличающаяся тем, что на наружной боковой поверхности емкости пазы выполнены под углом 45° в виде Г-образной формы по направлению к ее основанию.



## РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## ПАТЕНТ

НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ

№ 191895

**Устройство для сбора личинок и мелких нематод из фекалий  
животных и человека**

Патентообладатель: *Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины ФГБОУ ВО СПбГАВМ (RU)*

Авторы: *Логинова Ольга Александровна (RU), Белова Лариса Михайловна (RU), Гаврилова Надежда Алексеевна (RU), Ширяева Валентина Александровна (RU), Петрова Марина Сергеевна (RU), Кузнецов Юрий Евгеньевич (RU)*

Заявка № 2019121088

Приоритет полезной модели 03 июля 2019 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре полезных

моделей Российской Федерации 26 августа 2019 г.

Срок действия исключительного права

на полезную модель истекает 03 июля 2029 г.

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

*Г.П. Иванев* Г.П. Иванев





РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **191 895<sup>(13)</sup> U1**(51) МПК  
A61B 10/00 (2006.01)ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ФОРМУЛА ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ**(52) СПК  
A61B 10/00 (2019.05); C12M 1/33 (2019.05)

(21)(22) Заявка: 2019121088, 03.07.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
03.07.2019Дата регистрации:  
26.08.2019

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 03.07.2019

(45) Опубликовано: 26.08.2019 Бюл. № 24

Адрес для переписки:

196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, 5,  
ФГБОУ ВО СПбГАВМ, Сафонову Ю.К.

(72) Автор(ы):

Логина Ольга Александровна (RU),  
Белова Лариса Михайловна (RU),  
Гаврилова Надежда Алексеевна (RU),  
Ширяева Валентина Александровна (RU),  
Петрова Марина Сергеевна (RU),  
Кузнецов Юрий Евгеньевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
образовательное учреждение высшего  
образования Санкт-Петербургская  
государственная академия ветеринарной  
медицины ФГБОУ ВО СПбГАВМ (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2663629 C1 07.08.2018. RU 169122  
U1 03.03.2017. RU 175234 U1 28.11.2017. US  
5643568 A 01.07.1997. US 20170273670 A1  
28.09.2017.

(54) Устройство для сбора личинок и мелких нематод из фекалий животных и человека

## (57) Формула полезной модели

Устройство для сбора личинок и мелких нематод из фекалий животных и человека, отличающееся тем, что содержит емкость в виде плоскодонного цилиндра высотой 14 мм и диаметром 100 мм, в центре которого расположена шестигранная сквозная втулка, высота которой соответствует высоте бортов емкости, причем внутренняя поверхность втулки снабжена вертикальными бороздами, а ее внешние ребра соединены с бортами емкости радиальными перегородками, высота которых соответствует высоте бортов емкости.

RU 191895 U1

RU 191895 U1



ООО НПО «Апи-Сан». 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, дом 5, стр. 1  
Тел./факс: 8 (495) 580-7713, web: [www.api-san.ru](http://www.api-san.ru), e-mail: [info@api-san.ru](mailto:info@api-san.ru)

Исх.№ 03/1709 от 17.09.2018

### СПРАВКА

Компания ООО НПО «Апи-Сан», в лице генерального директора Осадчука Александра Викторовича, подтверждает, что исследования, проведенные ассистентом кафедры паразитологии ФГБОУ ВПО СпбГАВМ Кузнецовым Ю.Е. по фармакологическим и терапевтическим свойствам препарата Стоп-кокцид<sup>®</sup>, применяемого при кокцидиозах у пушных зверей, были использованы при внесении изменений в инструкцию на данный препарат для ветеринарного применения.

Инструкция на препарат Стоп-кокцид<sup>®</sup>, утверждена Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору Минсельхоза России 03 августа 2018 года, номер регистрационного удостоверения 77-3-8.17-4215№ПВР-3.21.12/02859.

Генеральный директор  
ООО НПО «Апи-Сан»



Осадчук А.В.



### ИНСТРУКЦИЯ

по ветеринарному применению лекарственного препарата Стоп-кокцид®

(организация-разработчик: ООО «АПИ-САН», 117437, г. Москва,  
ул. Ак. Арцимовича, д. 3, корп. 1, кв. 222)

Номер регистрационного удостоверения: 77-3-8.17-4215/11743-21.12/08259

#### I. Общие сведения

1. Наименование лекарственного препарата для ветеринарного применения:

торговое наименование Стоп-кокцид® (Stop-coccid);  
международное непатентованное наименование толтразурил.

2. Лекарственная форма: суспензия для приема внутрь.

Стоп-кокцид® в 1 мл в качестве действующего вещества содержит толтразурил – 50 мг, а также вспомогательные вещества: бензоат натрия, сорбат калия, Na-карбоксиметилцеллюлозу, аспасвит Ц 200, лактозу, полисорбат-80, кремния диоксид коллоидный, пропиленгликоль, ксантановую камедь, лимонную кислоту, 20% эмульсию полидиметилсилоксана и воду очищенную.

3. По внешнему виду препарат представляет собой суспензию белого цвета; при хранении допускается расслоение, исчезающее при взбалтывании.

Срок годности лекарственного препарата при соблюдении условий хранения в закрытой упаковке производителя – 3 года со дня производства.

Запрещается применение препарата Стоп-кокцид® по истечении срока годности.

4. Препарат выпускают расфасованным по 10, 100, 250 мл и 1 л в полимерные флаконы с навинчиваемыми крышками с контролем первого вскрытия. Флаконы объемом 10, 100 и 250 мл помещают поштучно в картонную пачку. Каждую потребительскую упаковку снабжают инструкцией по применению.

5. Хранят препарат в закрытой упаковке производителя, в защищенном от прямых солнечных лучей месте, отдельно от продуктов питания и кормов при температуре от 0°C до 25°C.

6. Стоп-кокцид® следует хранить в местах, недоступных для детей.

7. Неиспользованный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.

8. Условия отпуска: без рецепта ветеринарного врача.



## II. Фармакологические свойства

9. Стоп-кокцид® относится к антикокцидийным препаратам группы триазинтриона.

10. Толтразурил, входящий в состав лекарственного препарата, обладает широким спектром кокцидиоцидного действия на стадиях внутриклеточного развития паразитов, эффективен в отношении всех видов кокцидий, включая *Eimeria* spp., *Isospora* spp., *Cystoisospora* spp., паразитирующих у поросят, телят, ягнят, кроликов, щенков собак и пушных зверей.

Толтразурил оказывает повреждающее действие на митохондрии и процессы деления ядра кокцидий, нарушая процесс формирования макрогаметоцитов, блокируя дыхательные ферменты, вызывает гибель паразитов.

После перорального введения лекарственного препарата толтразурил медленно всасывается и оказывает кокцидиоцидное действие на слизистой и подслизистой оболочках желудочно-кишечного тракта.

В организме толтразурил метаболизируется путем сульфокисления и гидроксирования, с образованием сульфоксида и сульфона. Выводится из организма в основном в неизменном виде – до 70%, а также в виде метаболитов с фекалиями и частично с мочой.

Стоп-кокцид® по степени воздействия на организм относится к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), в рекомендуемых дозах не вызывает у животных побочных явлений и осложнений, не препятствует формированию иммунитета к кокцидиозу.

## III. Порядок применения

11. Стоп-кокцид® назначают телятам, ягням, козлятам, поросятам, кроликам, щенкам собак и пушным зверям для лечения и профилактики кокцидиозов.

12. Противопоказанием к применению препарата Стоп-кокцид® является повышенная индивидуальная чувствительность животного к компонентам препарата, серьезные нарушения функции печени и/или почек.

Не следует применять препарат взрослым жвачным с развитым рубцовым пищеварением.

13. При работе с препаратом Стоп-кокцид® следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными препаратами. По окончании работы руки следует вымыть теплой водой с мылом. При случайном контакте лекарственного препарата с кожей или слизистыми оболочками глаза, их следует немедленно промыть большим количеством воды. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с препаратом. В случае появления аллергических реакций или при случайном попадании препарата в организм человека, следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или этикетку).

Пустые флаконы из-под лекарственного препарата запрещается использовать для бытовых целей, они подлежат утилизации с бытовыми отходами.

14. Стоп-кокцид<sup>®</sup> не предназначен для применения самкам сельскохозяйственных животных в период беременности и лактации. Крольчихам и самкам пушных зверей при необходимости препарат применяют после консультации с ветеринарным врачом во второй половине беременности.

15. Стоп-кокцид<sup>®</sup> применяют животным перорально индивидуально с помощью шприца-дозатора или смешивают с небольшим количеством корма. В случае появления осадка емкость с суспензией перед использованием следует тщательно встряхнуть.

Дозы и схемы применения препарата представлены в таблице:

Вид животного	Возраст	Доза на 1 кг массы животного:		Кратность и длительность применения препарата
		Толтразурила, мг	Препарата, мл	
Телята, ягнята и козлята	с 14 дней	15	0,3	Однократно
Поросята	с 3 дней	20	0,4 (не менее 0,5 и не более 2 мл на одно животное)	Однократно
Щенки собак	с 14 дней	10	0,2	1 раз в день, 3 дня
Кролики	с 28 дней	7	0,14	Однократно
Норки	с 28 дней	20	0,4	Однократно
Песцы и лисицы	с 28 дней	10	0,2	Однократно

В неблагополучных по кокцидиозу хозяйствах для достижения максимального профилактического эффекта и снижения количества ооцист, выделяемых во внешнюю среду, препарат следует назначать восприимчивым животным до появления в стаде первых клинических признаков заболевания.

16. При применении препарата Стоп-кокцид<sup>®</sup> в соответствии с настоящей инструкцией побочных явлений и осложнений у животных, как правило, не наблюдается. При повышенной индивидуальной чувствительности животного к компонентам препарата Стоп-кокцид<sup>®</sup> и появлении побочных явлений и осложнений использование лекарственного препарата прекращают и проводят десенсибилизирующую терапию.

17. При передозировке препарата у животного может наблюдаться снижение аппетита, уменьшение потребления воды, расстройство желудочно-кишечного тракта, рвота.

18. Стоп-кокцид<sup>®</sup> не следует применять одновременно с другими антикокцидийными препаратами. Сведения о несовместимости препарата с лекарственными средствами других групп и кормовыми добавками отсутствуют.

19. Особенности действия препарата при его первом применении и отмене не выявлено.

20. Следует избегать нарушений схемы применения препарата, так как это может привести к снижению его эффективности. В случае пропуска очередной дозы, препарат необходимо ввести как можно скорее в той же дозе, далее интервал между введениями препарата не изменяется.

21. Убой телят, ягнят, козлят и кроликов на мясо разрешается не ранее чем через 63 суток, поросят – не ранее чем через 70 суток после применения препарата Стоп-кокцид®. Мясо животных, вынужденно убитых ранее установленных сроков, может быть использовано в корм пушным зверям.

Наименование и адрес производственной площадки производителя лекарственного препарата для ветеринарного применения.

ООО «Апиценна», Московская область, г. Балашиха, Полтевское шоссе, владение 4.

Наименование, адрес организации, уполномоченной держателем или владельцем регистрационного удостоверения лекарственного препарата на принятие претензий от потребителя.

ООО «Апиценна», Московская область, г. Балашиха, Полтевское шоссе, владение 4.

С согласованием настоящей инструкции утрачивает силу инструкция по применению Стоп-кокцида®, утвержденная Россельхознадзором 21 февраля 2017 года.



Форма



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВETERИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ**

**Регистрационное удостоверение  
лекарственного препарата для ветеринарного применения**

№ 004139

Номер регистрационного удостоверения:  
**77-3-1.17-3555 № ПВР-3-21.12/02859**

Дата государственной регистрации « 21 » февраля 20 17 г.

Наименование и адрес держателя или владельца регистрационного удостоверения  
лекарственного препарата: ООО НПО "Апи-Сан" Россия, 123022, г. Москва,  
Звенигородское шоссе, д. 5, стр. 1

Наименование и адрес юридического лица-разработчика лекарственного препарата:  
ООО "АПИ-САН" 117437, г. Москва, ул. Ак. Арцимовича, д. 3, корп. 1, кв. 222

Торговое наименование лекарственного препарата: **Стоп-кокцид®**

Международное непатентованное, или группировочное, или химическое  
наименование лекарственного препарата: **толтразурил**

Лекарственная форма: **суспензия для орального применения**

Дозировка: **50 мг**

Регистрационное удостоверение выдано бессрочно, со сроком действия 5 лет  
(нужное подчеркнуть)  
**до 31 августа 2017 года**

Заместитель Руководителя  
(должность)



(подпись)

Н.А. Власов  
(Ф.И.О.)



М. П.



ООО НПО «Апи-Сан». 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, дом 5, стр. 1  
Тел./факс: 8 (495) 580-7713, web: [www.api-san.ru](http://www.api-san.ru), e-mail: [info@api-san.ru](mailto:info@api-san.ru)

Исх.№ 02/1709 от 17.09.2018

### СПРАВКА

Компания ООО НПО «Апи-Сан», в лице генерального директора Осадчука Александра Викторовича, подтверждает, что исследования, проведенные ассистентом кафедры паразитологии ФГБОУ ВПО СпбГАВМ Кузнецовым Ю.Е. по фармакологическим и терапевтическим свойствам препарата Эпримек<sup>®</sup>, применяемого при паразитарных заболеваниях у пушных зверей, были использованы при внесении изменений в инструкцию на данный препарат для ветеринарного применения.

Инструкция на препарат Эпримек<sup>®</sup>, согласована Комитетом ветеринарного контроля и надзора МСХ Республики Казахстан 25 июня 2017, номер регистрационного удостоверения РК-ВП-5-3476-17 от 27.11.2017 года.

Генеральный директор  
ООО НПО «Апи-Сан»



Осадчук А.В.

**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
«АПИ-САН»**

*Заместитель председателя*

**СОГЛАСОВАНО**

Комитет ветеринарного контроля  
и надзора МСХ Республики Казахстан

*Кобурдаманбет Ғ.*

«25» сентября 2017 г.

**УТВЕРЖДЕНО**

Генеральный директор

ООО НПО «Апи-Сан»

*О.М. Бардадым*

«25» сентября 2017 г.

**Наставление (инструкция)**

**по применению (использованию) ветеринарного препарата**

**Эпримек® (раствор для инъекций)**

**Глава 1. Общие положения**

1. Торговое наименование лекарственного препарата: Эпримек® (Eprimes).
2. Международное непатентованное наименование: эприномектин.
3. Лекарственная форма: раствор для инъекций.
4. Эпримек® в 1 мл содержит в качестве действующего вещества эприномектин – 10 мг, в качестве вспомогательных веществ диметилацетамид, бензиловый спирт и триглицериды средней цепи (MCTs).

5. По внешнему виду препарат представляет прозрачный раствор желтоватого цвета. Срок годности лекарственного препарата при соблюдении условий хранения в закрытой упаковке – 3 года со дня производства, после вскрытия флакона – не более 28 суток.

Запрещается применение Эпримека® по истечении срока годности.

6. Эпримек® расфасован в стеклянные флаконы по 10, 100 и 500 мл, закрытые резиновыми пробками и закатанные алюминиевыми колпачками. Каждый флакон упаковывают в картонную пачку. На каждый флакон по 10 и 100 мл наклеивают этикетку самоклеящуюся с указанием: наименование организации-производителя, наименование (международное непатентованное или торговое) и лекарственную форму препарата, наименование и содержание действующего вещества, объем препарата во флаконе, номер серии, срок годности, годен до (месяц, год), условия хранения, дату производства (последние четыре цифры номера серии соответствуют дате производства), способ применения, надпись «Для ветеринарного применения», надпись «Стерильно». Картонные пачки на флаконы объемом 10 и 100 мл, этикетки флаконов по 500 мл маркируют с указанием: наименования организации-производителя, ее адреса, торгового и международного непатентованного наименований препарата, лекарственной формы препарата, наименования и содержания действующего вещества, объема препарата во флаконе, номера серии, номера регистрационного удостоверения, срока годности, даты производства (последние 4 цифры номера серии соответствуют дате производства), способа применения, условий отпуска, условий хранения, знака соответствия,

95



**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
«АПИ-САН»**

предупредительных надписей: «хранить в местах, недоступных для детей!», «не применять по истечении срока годности!», «перед применением ознакомиться с инструкцией!», обозначения стандарта, надписи: «Для ветеринарного применения», надписи: «Стерильно» и штрихового кода.

7. Хранят препарат в закрытой упаковке производителя, в защищенном от прямых солнечных лучей месте, отдельно от продуктов питания и кормов, при температуре от 5°C до 25°C.

Эпримек® следует хранить в местах, недоступных для детей.

8. Неиспользованный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.

Условия отпуска: без рецепта ветеринарного врача.

**Глава 2. Порядок применения ветеринарного препарата**

1. Перед применением препарата рекомендуется проконсультироваться с ветеринарным врачом.

Эпримек® вводят животным с соблюдением правил асептики и антисептики. Каждую партию препарата при применении его сельскохозяйственным животным предварительно испытывают на небольшой группе (7-10 голов) животных. При отсутствии осложнений в течение 3 дней приступают к обработке всего поголовья.

Противопоказанием к применению препарата является индивидуальная повышенная чувствительность животных к авермектинам и возраст до 4 месяцев. Запрещено применение Эпримека® собакам пород: колли, шелти, бобтейлы и их метисам.

Применение препарата беременным и кормящим самкам возможно после консультации с ветеринарным врачом.

Эпримек® не следует смешивать в одном шприце с другими фармакологическими препаратами.

2. Крупному и мелкому рогатому скоту, лошадям, оленям и верблюдам - подкожно или внутримышечно 1 мл Эпримека® на 50 кг веса животного (200 мкг действующего вещества на 1 кг веса), свиньям - внутримышечно 1 мл Эпримека® на 33 кг массы животного (300 мкг действующего вещества на 1 кг массы) однократно. В случае если объем вводимого раствора составляет более 10 мл, его следует вводить животному в несколько мест. Против нематод препарат применяют животным перед постановкой на стойловое содержание и весной перед выводом на пастбище, против личинок оводов - сразу после окончания лета оводов, против возбудителей арахноэнтомозов - по показаниям. Собакам, кошкам, песцам и лисицам Эпримек® вводят подкожно или внутримышечно из расчета 0,2 мл препарата на 10 кг массы животного (200 мкг действующего вещества на 1 кг веса).

**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
«АПИ-САН»**

Применяется однократно, при необходимости возможно повторное введение, но не ранее 14 дней после последней инъекции Эпримека®.

3. Эпримек® назначают крупному рогатому скоту, овцам, козам, оленям и верблюдам - при нематодозах: диктиокаулез, трихостронгилятозы, стронгилоидоз, аскаридозы, буностомоз, телязиоз; при гиподерматозе, эстрозе, псороптозе, саркоптозе, сифункулятозе, маллофагозе, а также для борьбы с падальными и мясными мухами. Лошадям - при стронгилятозах, параскаридозе, оксиурозе, саркоптозе и гастрофилезе. Свиным - при аскаридозе, эзофагостомозе, трихоцефалезе, стронгилоидозе, стефанурозе, метастронгилезе и других нематодозах; при саркоптозе и вшивости. Собакам, кошкам, песцам и лисицам - при токсокарозе, токсаскаридозе, анкилостомозе и унцинариозе, саркоптозе и отодектозе, нотоэдрозе, демодекозе и поражении блохами, а также для профилактики диروفилариоза.

4. Особые условия содержания и ухода за животными после применения препарата не требуются.

5. При повышенной индивидуальной чувствительности к Эпримеку® у некоторых животных наблюдается возбуждение, усиление саливации (у собак рвота), учащение дефекации и мочеиспускания, атаксия. Указанные симптомы проходят, как правило, самопроизвольно без применения терапевтических средств. При передозировке наблюдается саливация, возбуждение, учащение дефекации. Указанные симптомы проходят, как правило, самопроизвольно без применения терапевтических средств.

6. В случае появления аллергических реакций использование препарата прекращают и назначают антигистаминные средства, адреналин, кортикостероиды или другое симптоматическое лечение.

7. Убой на мясо крупного рогатого скота проводят не ранее чем через 8 суток, свиней – не ранее чем через 28 суток после последнего введения лекарственного препарата. Мясо животных, вынужденно убитых до истечения указанного срока, может быть использовано для кормления пушных зверей или для производства мясокостной муки.

Молоко можно использовать в пищевых целях без ограничений.

8. В соответствии с инструкцией по ветеринарному учету и ветеринарной отчетности применение Эпримека® регистрируют в журнале для записей противоэпизоотических мероприятий соответствующей формы. Ветеринарную отчетность представляют по единым утвержденным формам, в сроки, предусмотренные соответствующей формой отчета.

9. Наименование, адрес организации, уполномоченной держателем или владельцем регистрационного удостоверения лекарственного препарата на принятие

**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
«АПИ-САН»**

претензий от потребителя: ООО НПО «Апи-Сан», Московская область, г. Балашиха, Полтевское шоссе, владение 4. При установлении нежелательной реакции на ветеринарный препарат, или установлении его неэффективности, выясняют возможные причины их возникновения, и при подтверждении несоответствия препарата показателям качества составляют акт соответствующей формы и сообщают об этом в Комитет ветеринарного контроля и надзора Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан. Совместно с рекламацией направляют 2-3 флакона с некачественным препаратом.

Наставление разработано: компанией ООО «АПИ-САН» 117437, Российская Федерация, г. Москва, ул. Академика Арцимовича д.3, корп.1, кв. 222, тел. +7 (495) 580-7713, info@api-san.ru.

Рекомендовано к регистрации в Республике Казахстан КВКиН МСХ РК.





МИНИСТЕРСТВО  
СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ

№ РК-ВП-4-1867-12

Выдано настоящее удостоверение ООО «АПИ-САН», Россия

*(наименование юридического лица, Ф.И.О. физического лица)*

в том, что в соответствии с "Правилами проведения государственной регистрации ветеринарных препаратов в Республике Казахстан" препарат

Эпримек (Eprimes)

*(общепринятое и торговое наименование ветеринарного препарата)*

в форме раствора

*(указать лекарственную форму ветеринарного препарата)*

предназначенный для лечения и профилактики против эктопаразитов и нематодозов животных

*(указать сферу применения, ограничения и т.д.)*

Производитель препарата ООО «АПИ-САН», Россия

Зарегистрирован в Республике Казахстан за № РК-ВП-4-1867-12

*(номер регистрации)*

от " 16 " апрель 2012 г.

*(дата регистрации)*

до 16.04.2017 г.

*(срок регистрации)*

Данное удостоверение не является обязательством по закупке ветеринарного препарата и сертификатом качества.

Руководитель



*(подпись)*

Жакупбаев Н.Х.

*(Ф.И.О.)*



Общество с ограниченной ответственностью  
«Научно-внедренческий центр  
Агроветзащита»

Россия, 129329, г. Москва,  
Игарский проезд, д. 4, стр. 2.

Тел.: (495) 721-49-82  
Эл.почта: help@vetmag.ru  
Интернет: www.vetmag.ru

По месту требования

ИНН 7716520412  
КПП 771601001  
ОГРН 1057746171097

Дата 19.03.20 Исх. № 42

### СПРАВКА

Результаты научно-исследовательских работ ассистента кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» кандидата ветеринарных наук Кузнецова Ю.Е. при разработке лекарственного препарата для ветеринарного применения «ИВЕРСАН®» (регистрационное удостоверение 77-3-2.19-4435№ПВР-3-12.15/03238 от 13 марта 2019 г.) были использованы при составлении инструкции по применению вышеуказанного препарата.

Генеральный директор,  
д.в.н., профессор,  
академик РАН



С.В. Енгашев

Исполнитель: Филимонов Д.Н.  
тел.: +7 (495) 721-49-82  
e-mail: nauka2@vetmag.ru





ИНСТРУКЦИЯ  
 по ветеринарному применению лекарственного препарата ИВЕРСАН®

(Организация-разработчик: ООО «НВЦ Агроветзащита»,  
 129329, Россия, г. Москва, Игарский проезд, д. 4, стр. 2.)

Номер регистрационного удостоверения 44-3-2.19-4435/172P-3-12.15/03238

I. Общие сведения

1. Наименование лекарственного препарата для ветеринарного применения:  
 торговое наименование - ИВЕРСАН® (IVERSAN®)  
 международное непатентованное наименование - ивермектин.
2. Лекарственная форма: раствор для орального применения.  
 ИВЕРСАН® в качестве действующего вещества в 1 мл содержит ивермектин – 40 мг и вспомогательные вещества: витамин Е полиэтиленгликоль сукцинат (Kolliphor TPGS) и полиэтиленгликоль-400.
3. По внешнему виду препарат представляет собой прозрачную маслянистую жидкость зеленовато-желтого цвета.  
 Срок годности лекарственного препарата при соблюдении условий хранения в закрытой упаковке производителя – 2 года со дня производства, после первого вскрытия упаковки – 42 дня.  
 Запрещается применение лекарственного препарата по истечении срока годности.
4. Выпускают лекарственный препарат расфасованным по 10, 20, 50, 100 и 250 мл в полимерные флаконы и флаконы темного стекла соответствующей вместимости, укупоренные резиновыми пробками и обкатанными алюминиевыми колпачками, или полимерными навинчиваемыми крышками с контролем первого вскрытия; по 0,5 и 1,0 л в полимерные бутылки; по 2,5 и 5,0 л в полимерные канистры соответствующей вместимости, укупоренные навинчиваемыми крышками. Флаконы по 10, 20 и 50 мл индивидуально упаковывают в картонные пачки. Каждую потребительскую упаковку снабжают инструкцией по применению.
5. ИВЕРСАН® хранят в закрытой упаковке производителя в защищенном от прямых солнечных лучей месте, отдельно от продуктов питания и кормов, при температуре от 5 °С до 25°С.
6. ИВЕРСАН® следует хранить в местах, недоступных для детей.
7. Неиспользованный лекарственный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.
8. Условия отпуска: без рецепта ветеринарного врача.

## II. Фармакологические свойства

9. ИВЕРСАН® относится к противопаразитарным лекарственным препаратам класса макроциклических лактонов.

10. Ивермектин, входящий в состав препарата, активен в отношении личиночных и половозрелых фаз развития нематод желудочно-кишечного тракта и легких, блох, вшей, власоедов, пухопероедов, кровососок, личинок подкожных, носоглоточных, желудочных оводов, саркоптоидных и гамазовых клещей, паразитирующих у свиней, крупного и мелкого рогатого скота, лошадей, сельскохозяйственных птиц, пушных зверей и собак.

Механизм действия ивермектина, заключается в его влиянии на величину тока ионов хлора через мембраны нервных и мышечных клеток паразита. Основной мишенью являются глутаматчувствительные хлорные каналы, а также рецепторы гамма-аминомасляной кислоты. Изменение тока ионов хлора нарушает проведение нервных импульсов, что приводит к параличу и гибели паразита. После парентерального и перорального введения препарата ивермектин хорошо всасывается, поступает в системный кровоток и распределяется в органах и тканях животных и сельскохозяйственных птиц, обеспечивая длительное противопаразитарное действие.

Из организма ивермектин выводится в основном в неизменном виде преимущественно с фекалиями и частично с мочой, у лактирующих животных – также с молоком.

ИВЕРСАН® по степени воздействия на организм относится к умеренно опасным веществам (3 класс опасности по ГОСТ 12.1.007), в рекомендуемых дозах не оказывает эмбриотоксического, тератогенного и мутагенного действия; во внешней среде быстро разрушается. Препарат токсичен для пчел, а также рыб и других гидробионтов.

## III. Порядок применения

11. ИВЕРСАН® применяют с лечебно-профилактической целью свиньям, крупному и мелкому рогатому скоту, лошадям, сельскохозяйственным птицам (куры, гуси, утки, индейки), собакам и пушным зверям при нематодозах и арахно-энтомозах:

-свиньям при аскаридозе, стронгилоидозе, трихоцефалезе, метастронгилезе, эзофагостомозе, гематопинозе и саркоптозе;

-крупному рогатому скоту при стронгилятозах (гемонхозе, остертагиозе, буностомозе, хабертиозе, эзофагостомозе, нематодирозе, трихостронгилезе, коопериозе), неоаскаридозе, трихоцефалезе, стронгилоидозе, диктиокаулезе, мюллерииозе, цистокаулезе, протостронгилидозах, бовиколезе, сифункулятозе, саркоптозе, псороптозе, хориоптозе, гиподерматозе;

-овцам и козам при стронгилятозах (гемонхозе, остертагиозе, нематодирозе, коопериозе, эзофагостомозе, хабертиозе, трихостронгилезе, буностомозе), трихоцефалезе, неоаскаридозе, стронгилоидозе, диктиокаулезе, протостронгилезе, мюллерииозе, малофагозе, эстрозе, псороптозе;

-лошадям при делафондиозе, альфортиозе, трихонематозах, параскаридозе, оксиурозе, стронгилезе, стронгилоидозе, парафиляриозе, сетариозе, габронематозе, драйшиозе, гастрофилезе.

-сельскохозяйственным птицам (курам, гусям, уткам, индейкам) при аскаридозе, гетеракидозе, капилляриозе, энтомозах, вызванных *Aphaniptera* spp., *Menacanthus stramineus*, *Ceratophyllus gallinae*, *Menopon gallinae*, акарозах, вызванных *Dermanyssus gallinae*, *Knemidocoptes mutans*, *Dermatoryktes mutans*.

-собакам и пушным зверям при токсокарозе, токсаскариозе, унцинариозе, анкилостомозе, трихоцефалезе, отодектозе, нотоэдрозе, саркоптозе, демодекозе, афаниптерозе, линогнатозе, триходектозе, хейлетиеллезе.

12. Противопоказанием для применения препарата является повышенная индивидуальная чувствительность животного к компонентам лекарственного препарата, в том числе в анамнезе. Не допускается применение препарата больным инфекционными



болезнями и истощенным животным. Запрещается применение препарата курам-несушкам, ремонтному молодняку кур менее чем за 14 суток до начала яйцекладки, в связи с накоплением ивермектина в яйцах.

Применение препарата собакам породы колли, бобтейл, шелти и их помесям, в связи с повышенной чувствительностью этих пород к макроциклическим лактонам, проводят под контролем ветеринарного врача.

13. При работе с лекарственным препаратом ИВЕРСАН® необходимо соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными препаратами. По окончании работы следует тщательно вымыть с мылом руки. При случайном попадании препарата на кожу или слизистые оболочки его необходимо смыть большим количеством воды. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с препаратом ИВЕРСАН®. В случае появления аллергических реакций или случайном попадании лекарственного препарата внутрь следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или этикетку).

Пустую тару из-под лекарственного препарата запрещается использовать для бытовых целей, она подлежит утилизации с бытовыми отходами.

14. Не рекомендуется применять ИВЕРСАН® беременным и лактирующим животным, а также собакам и пушным зверям моложе 2-месячного возраста.

15. ИВЕРСАН® применяют в следующих дозах:

- свиньям групповым способом с водой для поения в суточной дозе 1 мл на 100 кг массы животного (400 мкг ивермектина на 1 кг массы животного);

- крупному рогатому скоту индивидуально с водой в дозе 1 мл на 200 кг массы животного (200 мкг ивермектина на 1 кг массы животного);

- мелкому рогатому скоту индивидуально с водой или групповым способом с кормом или водой в дозе 1 мл на 200 кг массы животного (200 мкг ивермектина на 1 кг массы животного);

- лошадям индивидуально с водой или кормом в дозе 1 мл на 200 кг массы животного (200 мкг ивермектина на 1 кг массы животного);

- собакам и пушным зверям индивидуально с небольшим количеством корма или водой для поения в разовой дозе 0,05 мл на 10 кг массы животного (соответствует 200 мкг ивермектина на 1 кг массы). Для этого 0,5 мл препарата ИВЕРСАН® разводят в 4,5 мл теплой кипяченой воды, полученный раствор дозируют из расчета 0,5 мл на 10 кг массы животного. Приготовленный водный раствор препарата ИВЕРСАН® хранению не подлежит;

- птицам групповым способом с водой для поения в суточной дозе 10 мл на 100 л воды.

Схема применения препарата в зависимости от паразитарного заболевания указана в таблице:

Вид животных	Заболевание	Схема применения препарата
Свиньи, крупный и мелкий рогатый скот, лошади, сельскохозяйственные птицы (куры, гуси, утки, индейки)	нематодозы	однократно
	арахно-энтомы (кроме эстроза, гиподерматоза, гастрофилеза)	двукратно с интервалом 14 суток
Крупный и мелкий рогатый скот, лошади	эстроз, гиподерматоз, гастрофилез	однократно
Собаки, пушные звери	нематодозы	однократно
	отодектоз, нотоэдроз, саркоптоз, демодекоз	1 раз в 3 дня в течение 21 суток
	афаниптероз, линогнатоз, триходектоз, хейлетиеллез	двукратно с интервалом 14 суток

При групповом способе применения для приготовления лечебного раствора ИВЕРСАН® в дозе, рассчитанной на обрабатываемое поголовье, разводят в ¼ части суточной нормы воды, потребляемой птицей, или в 1/3 части суточной нормы воды, потребляемой свиньями, мелким рогатым скотом. Лечебный раствор препарата готовят ежедневно.

Порядок приготовления кормолекарственной смеси  
с лекарственным препаратом ИВЕРСАН®  
для группового способа применения мелкому рогатому скоту и лошадям

- 1) определение общей массы группы животных;
- 2) определение количества ИВЕРСАН® на группу исходя из дозы 0,005 мл/кг (200 мкг ивермектина / кг) – 0,005 мл x общую массу группы животных;
- 3) определение разовой массы зерна на группу животных: норма зерна в г на голову x количество голов;
- 4) определение объема воды для приготовления рабочего раствора ИВЕРСАН® – ½ от массы зерна;
- 5) приготовление рабочего раствора ИВЕРСАН® – смешать отмеренный объем ИВЕРСАН® (см. п.2) с отмеренным объемом воды (см. п.4);
- 6) приготовление кормолекарственной смеси – насыпать отмеренное количество зерна (см. п.3) в емкость, добавить рабочий раствор (см. п.5) в соотношении 2 : 1, тщательно перемешать, оставить до полного впитывания зерном рабочего раствора;
- 7) насыпать полученную кормолекарственную смесь в кормушки, обеспечивающие свободный доступ всех животных группы и подпустить животных.

Обработку при нематодозах проводят осенью перед постановкой на стойловое содержание и весной перед выводом на пастбище, против оводовых инвазий – сразу после окончания лета оводов, против возбудителей арахно-энтомозов – по показаниям.

Каждую серию препарата предварительно испытывают на небольшой группе (7-10 голов) животных. При отсутствии осложнений в течение 3 дней приступают к обработке всего поголовья.

16. Побочных явлений и осложнений при применении препарата в соответствии с настоящей инструкцией, как правило, не наблюдается. При повышенной индивидуальной чувствительности к компонентам препарата и появлении аллергических реакций использование лекарственного препарата ИВЕРСАН® прекращают и проводят десенсибилизирующую терапию.

17. При передозировке препарата у животных может наблюдаться учащение дефекации и мочеиспускания, снижение аппетита.

18. ИВЕРСАН® не следует применять одновременно с другими препаратами, содержащими макроциклические лактоны. Сведения о несовместимости препарата с лекарственными средствами других фармакологических групп и кормовыми добавками отсутствуют.

19. Особенностей действия лекарственного препарата при его первом применении и отмене не выявлено.

20. Следует избегать нарушений схемы применения препарата, так как это может привести к снижению терапевтической эффективности.

21. Убой свиней на мясо разрешается не ранее чем через 21 сутки, крупного и мелкого рогатого скота – 28 суток, сельскохозяйственных птиц – 9 суток после последнего применения лекарственного препарата ИВЕРСАН®. Мясо животных, вынужденно убитых до истечения указанных сроков, может быть использовано в корм пушным зверям.





**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ**

**Регистрационное удостоверение  
лекарственного препарата для ветеринарного применения**

№ **005137**

Номер регистрационного удостоверения:  
**77-3-2.19-4435 № ПВР-3-12.15/03238**

Дата государственной регистрации: « 13 » марта 2019 г.

Наименование и адрес держателя или владельца регистрационного удостоверения  
лекарственного препарата: ООО "НВЦ Агроветзащита" 129329, г. Москва,  
Игарский проезд, д. 4, стр.2

Наименование и адрес юридического лица - разработчика лекарственного препарата:  
ООО "НВЦ Агроветзащита" 129329, г. Москва, Игарский проезд, д. 4, стр.2

Торговое наименование лекарственного препарата: **ИВЕРСАН®**

Международное непатентованное, или группировочное, или химическое  
наименование лекарственного препарата: **ивермектин**

Лекарственная форма: **раствор для орального применения**

Дозировка: **40 мг**

Регистрационное удостоверение выдано бессрочно, со сроком действия 5 лет  
(нужное подчеркнуть) до 18.12.2020

Заместитель Руководителя  
(должность)



(подпись)

Н.А. Власов  
(Ф.И.О.)

М.П.



## ПРИЛОЖЕНИЕ Л



Общество с ограниченной ответственностью  
«Научно-внедренческий центр  
Агроветзащита»

Россия, 129329, г. Москва,  
Игарский проезд, д. 4, стр. 2.

Тел.: (495) 721-49-82  
Эл.почта: help@vetmag.ru  
Интернет: www.vetmag.ru

По месту требования

ИНН 7716520412  
КПП 771601001  
ОГРН 1057746171097

Дата 18.03.2019 Иск. № 44

## СПРАВКА

Результаты научно-исследовательских работ ассистента кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» кандидата ветеринарных наук Кузнецова Ю.Е. при разработке лекарственного препарата для ветеринарного применения «Эмидонол 5%, 10%» (регистрационное удостоверение 77-3-12.18-4280№ПВР-3-21.13/02944 от 18 октября 2018 г.) были использованы при составлении инструкции по применению вышеуказанного препарата.

Генеральный директор,  
д.в.н., профессор,  
академик РАН



С.В. Енгашев

Исполнитель: Филимонов Д.Н.  
тел.: +7 (495) 721-49-82  
e-mail: nauka2@vetmag.ru



## ИНСТРУКЦИЯ

по применению Эмидонола 5% и 10% сельскохозяйственным и мелким домашним животным, пушным зверям, кроликам и декоративным грызунам при патологических состояниях, сопровождающихся гипоксией

(Организация-разработчик: ООО «НВЦ Агроветзащита», г. Москва)

### I. Общие сведения

1. Торговое наименование лекарственного препарата: Эмидонол 5%, 10% (Emidonolum 5%, 10%).

Химическое наименование: 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат-2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина дисукцинат.

2. Лекарственная форма: раствор для инъекций.

Эмидонол 5%, 10% в качестве действующего вещества соответственно содержит 50 мг/мл и 100 мг/мл эмидонола<sup>®</sup> – 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат-2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина дисукцината, а в качестве вспомогательного вещества воду для инъекций до 1 мл.

По внешнему виду препарат представляет собой бесцветную или светло-желтого цвета прозрачную жидкость.

3. Выпускают лекарственный препарат расфасованным по 10, 20, 50 и 100 мл в стеклянные флаконы соответствующей вместимости, упакованные поштучно в картонные пачки вместе с инструкцией по применению.

4. Хранят Эмидонол 5%, 10% в закрытой упаковке производителя в защищенном от света и влаги месте, отдельно от пищевых продуктов и кормов при температуре от 5<sup>0</sup>С до 25<sup>0</sup>С.

Срок годности препарата при соблюдении условий хранения в закрытой упаковке производителя – 2 года со дня производства, после первого вскрытия флакона – 28 суток.

Запрещается применение лекарственного препарата по истечении срока годности.

5. Эмидонол 5%, 10% следует хранить в местах, недоступных для детей.

6. Неиспользованный лекарственный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.

### II. Фармакологические свойства

7. Эмидонол 5%, 10% относится к лекарственным препаратам группы антиоксидантов.

Входящий в состав препарата эмидонол<sup>®</sup> является ингибитором свободно-радикальных процессов в организме, обладает выраженными антиоксидантными,

антигипоксическими и мембранопротекторными свойствами, оказывает лечебное и профилактическое действие при гипоксиях различной этиологии.

Механизм действия эмидонола заключается в специфическом влиянии на энергетический обмен посредством снижения интенсивности перекисного окисления липидов в мембранах клеток и связывания свободных радикалов, что в условиях кислородной недостаточности приводит к повышению степени энергизации клеток.

После парентерального введения эмидонол быстро всасывается из места инъекции и распределяется в органах и тканях животного, в печени подвергается биотрансформации, выводится из организма в основном с мочой в виде глюкурон-конъюгатов и в незначительном количестве в неизмененном форме; период полувыведения составляет от 0,99 ч до 1,25 ч.

Эмидонол 5%, 10% по степени воздействия на организм относится к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), не обладает местно-раздражающими, кумулятивными, эмбриотоксическими и тератогенными свойствами.

### III. Порядок применения

8. Эмидонол 5%, 10% назначают крупному и мелкому рогатому скоту, лошадям, свиньям, собакам, кошкам, пушным зверям, кроликам и декоративным грызунам с профилактической целью и в составе комплексной терапии при заболеваниях, сопровождающихся гипоксией (кислородной недостаточностью) органов и тканей, в том числе при острой, хронической сердечно-сосудистой и сердечно-легочной недостаточности, раневой патологии (раны, дерматиты, трофические язвы, ожоги, обморожения), при стрессах и интоксикациях различной этиологии, в восстановительный период после перенесенных заболеваний или хирургических вмешательств, а также в ветеринарной гериатрии.

9. Противопоказанием к применению является повышенная индивидуальная чувствительность животного к эмидонолу.

10. Эмидонол 5%, 10% вводят животным подкожно, внутримышечно или внутривенно (капельно, со скоростью 60 капель в минуту) 1-2 раза в сутки в течение 5-15 дней в дозах, указанных в таблице:

Вид животного	Доза эмидонола (ДВ), мг/кг массы животного	Доза, мл/кг массы животного	
		Эмидонол 5%	Эмидонол 10%
Крупный рогатый скот	2,0	-	0,02
Телята, овцы, козы	5,0	-	0,05
Лошади	1,0-2,0	-	0,01 - 0,02
Свиньи	2,0-5,0	-	0,02 - 0,05
Поросята	5,0-10,0	0,1 - 0,2	-
Собаки, кошки, пушные звери	2,5-10,0	0,05- 0,2	-
Кролики, нутрии, шиншиллы, хомяки, крысы, мыши	20,0	0,4	-

Дозу, способ, кратность введения и продолжительность курса применения препарата определяет лечащий ветеринарный врач в зависимости от физиологического состояния животного и течения болезни.



В ветеринарной гериатрии препарат применяют собакам и кошкам старше 7 лет в весенне-осенний период один раз в сутки в течение 10-30 дней в дозе 2,5 мг Эмидонола на 1 кг массы животного, что составляет 0,5 мл Эмидонола 5% на 10 кг массы животного.

11. Симптомы передозировки препарата у животных не выявлены.

12. Особенности действия лекарственного препарата при его первом применении и отмене не установлено.

13. Следует избегать нарушений рекомендуемой схемы применения лекарственного препарата во избежание снижения его эффективности. В случае пропуска очередной дозы препарата его применение необходимо возобновить как можно скорее в той же дозе по той же схеме.

14. При применении Эмидонола 5%, 10% в соответствии с настоящей инструкцией побочных явлений и осложнений, как правило, не наблюдается.

15. Применение Эмидонола 5%, 10% не исключает использование других лекарственных средств этиотропной, патогенетической и симптоматической терапии.

16. Продукция животного происхождения, полученная после применения животным Эмидонола 5% и 10%, может быть использована без ограничений.

#### IV. Меры личной профилактики

17. При работе с Эмидонолом 5%, 10% следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами. Во время работы запрещается курить, пить и принимать пищу. По окончании работы руки следует вымыть теплой водой с мылом.

18. При случайном контакте лекарственного препарата с кожей или слизистыми оболочками глаз их необходимо промыть большим количеством воды. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с Эмидонолом 5%, 10%. В случае появления аллергических реакций или при случайном попадании препарата в организм человека следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или этикетку).

19. Пустую тару из-под лекарственного препарата запрещается использовать для бытовых целей, она подлежит утилизации с бытовыми отходами.

20. Организация-производитель: ООО «НВЦ Агроветзащита С-П.»; 141300, Московская область, г. Сергиев Посад, Центральная ул., 1.

Инструкция разработана ООО «Научно-внедренческий центр Агроветзащита»; 129329, Россия, г. Москва, Кольская ул., 1, стр. 1.

Рекомендовано к регистрации в Российской Федерации ФГБУ «ВГНКИ».

Номер регистрационного удостоверения



Форма



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВETERИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ**

**Регистрационное удостоверение  
лекарственного препарата для ветеринарного применения**

**№ 004973**

Номер регистрационного удостоверения: \_\_\_\_\_  
**77-3-12.18-4280 № ПВР-3-21.13/02944**

Дата государственной регистрации « 18 » \_\_\_\_\_ октября 20 18 г.

Наименование и адрес держателя или владельца регистрационного удостоверения  
лекарственного препарата: ООО "НВЦ Агроветзащита" 129329, г. Москва,  
Игарский проезд, д. 4, стр.2

Наименование и адрес юридического лица-разработчика лекарственного препарата:  
ООО "НВЦ Агроветзащита" Россия, 129329, г. Москва, ул. Кольская, д. 1, стр. 1

Торговое наименование лекарственного препарата: Эмидонол 5%, 10%

Международное непатентованное, или группировочное, или химическое  
наименование лекарственного препарата: 3-(2,2,2-триметилгидразиний)  
пропионат-2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина дисукцинат

Лекарственная форма: раствор для инъекций

Дозировка: 50 мг, 100 мг

Регистрационное удостоверение выдано бессрочно, со сроком действия 5 лет  
(нужное подчеркнуть)

Заместитель Руководителя \_\_\_\_\_ Н.А. Власов  
(должность) \_\_\_\_\_ (подпись) \_\_\_\_\_ (Ф.И.О.)

М. П. 



## ПРИЛОЖЕНИЕ М



Общество с ограниченной ответственностью  
**«Научно-внедренческий центр  
 Агроветзащита»**

Россия, 129329, г. Москва,  
 Игарский проезд, д. 4, стр. 2.

Тел.: (495) 721-49-82  
 Эл.почта: help@vetmag.ru  
 Интернет: www.vetmag.ru

По месту требования

ИНН 7716520412  
 КПП 771601001  
 ОГРН 1057746171097

Дата 13.08.20 Исх. № 415

## СПРАВКА

Результаты научно-исследовательских работ ассистента кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» кандидата ветеринарных наук Кузнецова Ю.Е. при разработке лекарственного препарата для ветеринарного применения «Эмидонол 20%» (регистрационное удостоверение 77-3-13.18-4323№ПВР-3-21.13/02952 от 23 ноября 2018 г.) были использованы при составлении инструкции по применению вышеуказанного препарата.

Генеральный директор,  
 д.в.н., профессор,  
 академик РАН



С.В. Енгашев

Исполнитель: Филимонов Д.Н.  
 тел.: +7 (495) 721-49-82  
 e-mail: nauka2@vetmag.ru



### ИНСТРУКЦИЯ

по применению Эмидонола 20% свиньям, собакам, кошкам, пушным зверям, кроликам, декоративным грызунам и сельскохозяйственным птицам при патологических состояниях, сопровождающихся гипоксией

(Организация-разработчик: ООО «НВЦ Агроветзащита», г. Москва)

#### I. Общие сведения

1. Торговое наименование лекарственного препарата: Эмидонол 20% (Emidonolum 20%).

Химическое наименование: 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат-2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина дисукцинат.

2. Лекарственная форма: раствор для орального применения.

Эмидонол 20% в качестве действующего вещества в 1 мл содержит 200 мг эмидонола – 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат-2-этил-6-метил-3-гидрокси-пиридина дисукцината и вспомогательные вещества: моноэтаноламин – 7,7 мг, бензоат натрия – 1 мг, сорбат калия – 3 мг, сорбит – 400 мг и воду очищенную – до 1 мл.

По внешнему виду препарат представляет собой бесцветную или светло-желтого цвета прозрачную жидкость.

3. Выпускают лекарственный препарат расфасованным: по 100 мл в стеклянные флаконы, по 100 и 250 мл в пластиковые флаконы, по 10 и 20 мл в пластиковые флаконы-капельницы; по 500 и 1000 мл в пластиковые бутылки, по 2,5 и 5,0 л в пластиковые канистры. Флаконы и флаконы-капельницы упаковывают поштучно в пачки из картона вместе с инструкцией по применению.

4. Хранят Эмидонол 20% в закрытой упаковке производителя в защищенном от света и влаги месте, отдельно от пищевых продуктов и кормов при температуре от 5 °С до 25 °С.

Срок годности препарата при соблюдении условий хранения в закрытой упаковке производителя – 2 года со дня производства.

Запрещается применение лекарственного препарата по истечении срока годности.

5. Эмидонол 20% следует хранить в местах, недоступных для детей.

6. Неиспользованный лекарственный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.

#### II. Фармакологические свойства

7. Эмидонол 20% относится к лекарственным препаратам группы антиоксидантов.

Входящий в состав препарата эмидонол является ингибитором свободнорадикальных процессов в организме, обладает выраженными

антиоксидантными, антигипоксическими и мембранопротекторными свойствами, оказывает лечебное и профилактическое действие при гипоксиях различной этиологии.

Механизм действия эмидонола заключается в специфическом влиянии на энергетический обмен посредством снижения интенсивности перекисного окисления липидов в мембранах клеток и связывания свободных радикалов, что в условиях кислородной недостаточности приводит к повышению степени энергизации клеток.

После перорального введения эмидонол быстро всасывается из желудочно-кишечного и распределяется в органах и тканях животного, в печени подвергается биотрансформации, выводится из организма в основном с мочой в виде глюкуронконъюгатов и в незначительном количестве в неизмененном виде; период полувыведения составляет от 0,8 ч до 1,6 ч.

Эмидонол 20% по степени воздействия на организм относится к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), не обладает местно-раздражающими, кумулятивными, эмбриотоксическими и тератогенными свойствами.

### III. Порядок применения

8. Эмидонол 20% назначают свиньям, собакам, кошкам, пушным зверям, кроликам, декоративным грызунам и сельскохозяйственным птицам с профилактической целью и в составе комплексной терапии при заболеваниях, сопровождающихся гипоксией (кислородной недостаточностью) органов и тканей, в том числе при острой, хронической сердечно-сосудистой и сердечно-легочной недостаточности, раневой патологии (раны, дерматиты, трофические язвы, ожоги, обморожения), при стрессах и интоксикациях различной этиологии, в восстановительный период после перенесенных заболеваний или хирургических вмешательств, при повышенных физических нагрузках и в ветеринарной гериатрии.

9. Противопоказанием к применению является повышенная индивидуальная чувствительность животного к компонентам препарата.

10. Эмидонол 20% применяют животным перорально индивидуально или групповым способом с водой для поения в течение 15-30 дней: с лечебной целью 1-2 раза в сутки, с целью профилактики - 1 раз в сутки в дозах, указанных в таблице:

Вид животного	Доза		
	ДВ, мг/кг массы	Эмидонол 20%	
		мл/10 кг массы	капель/10 кг массы
Свиньи	5,0 – 10,0	0,25 – 0,5	5 – 10
Поросята	10,0 – 20,0	0,5 – 1,0	10 – 20
Собаки, кошки, пушные звери	5,0 – 20,0	0,25 – 1,0	5 – 20
Кролики, нутрии, шиншиллы, хомяки, крысы, мыши	40,0	2	40
Сельскохозяйственные птицы	5	25 мл/100 л воды	

Сельскохозяйственным птицам препарат применяют групповым способом с водой для поения в дозе 25 мл/100 л воды: взрослому поголовью в течение 15-30 дней, молодняку и цыплятам-бройлерам курсами: с 8-дневного возраста и 17-дневного возраста по 5 дней, с 26-дневного возраста - 10 дней.



Вода, содержащая лекарственный препарат, должна быть единственным источником питьевой воды. Лечебный раствор препарата готовят ежедневно из расчета суточной потребности птиц в воде.

Дозу, кратность и продолжительность курса применения препарата определяет лечащий ветеринарный врач в зависимости от физиологического состояния животного и течения болезни.

В ветеринарной гериатрии препарат применяют собакам и кошкам старше 7 лет в весенне-осенний период один раз в сутки в течение 30 дней в дозе 5 мг эмидонола на 1 кг массы животного, что составляет 0,25 мл Эмидонола 20% на 10 кг массы животного.

11. Симптомы передозировки препарата у животных не выявлены.

12. Особенности действия лекарственного препарата при его первом применении и отмене не установлено.

13. Следует избегать нарушений рекомендуемой схемы применения лекарственного препарата во избежание снижения его эффективности. В случае пропуска очередной дозы применение препарата необходимо возобновить как можно скорее в той же дозе по той же схеме.

14. При применении Эмидонола 20% в соответствии с настоящей инструкцией побочных явлений и осложнений, как правило, не наблюдается.

15. Применение Эмидонола 20% не исключает использование других лекарственных средств этиотропной, патогенетической и симптоматической терапии.

16. Продукция животного происхождения, полученная в период применения Эмидонола 20%, может быть использована без ограничений.

#### IV. Меры личной профилактики

17. При работе с Эмидонолом 20% следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами. Во время работы запрещается курить, пить и принимать пищу. По окончании работы руки следует вымыть теплой водой с мылом.

18. При случайном контакте лекарственного препарата с кожей или слизистыми оболочками глаз их необходимо промыть большим количеством воды. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с Эмидонолом 20%. В случае появления аллергических реакций или при случайном попадании препарата в организм человека следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или этикетку).

19. Пустую тару из-под лекарственного препарата запрещается использовать для бытовых целей, она подлежит утилизации с бытовыми отходами.

20. Организация-производитель: ООО «НВЦ Агроветзащита С-П.»; 141300, Московская область, г. Сергиев Посад, Центральная ул., 1.

Инструкция разработана ООО «НВЦ Агроветзащита», 129329, Россия, г. Москва, Кольская ул., 1, стр. 1.

Рекомендовано к регистрации в Российской Федерации ФГБУ «ВГНКИ».

Номер регистрационного удостоверения





ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВETERИНАРНОМУ И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ

**Регистрационное удостоверение  
лекарственного препарата для ветеринарного применения**

№ **005016**

Номер регистрационного удостоверения:

**77-3-13.18-4323 №ПВР-3-21.13/02952**

Дата государственной регистрации: « 23 » ноября 2018 г.

Наименование и адрес держателя или владельца регистрационного удостоверения  
лекарственного препарата: ООО "НВЦ Агроветзащита" 129329, г. Москва,  
Игарский проезд, д.4

Наименование и адрес юридического лица - разработчика лекарственного препарата:  
ООО "НВЦ Агроветзащита" Россия, 129329, г. Москва, ул. Кольская, д. 1, стр. 1

Торговое наименование лекарственного препарата: **Эмидонол 20%**

Международное непатентованное, или группировочное, или химическое  
наименование лекарственного препарата: **3-(2,2,2-триметилгидразиний)  
пропионат-2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина дисукцинат**

Лекарственная форма: **раствор для орального применения**

Дозировка: **200 мг**

Регистрационное удостоверение выдано бессрочно, со сроком действия 5 лет  
(нужное подчеркнуть)

Заместитель Руководителя  
(должность)



Н.А. Власов  
(Ф.И.О.)

М.П.



## ПРИЛОЖЕНИЕ Н



Общество с ограниченной ответственностью  
«Научно-внедренческий центр  
Агроветзащита»

Россия, 129329, г. Москва,  
Игарский проезд, д. 4, стр. 2.

Тел.: (495) 721-49-82  
Эл.почта: help@vetmag.ru  
Интернет: www.vetmag.ru

По месту требования

ИНН 7716520412  
КПП 771601001  
ОГРН 1057746171097

Дата 13.03.20 Исх. № 46

## СПРАВКА

Результаты научно-исследовательских работ ассистента кафедры паразитологии им. В.Л. Якимова ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» кандидата ветеринарных наук Кузнецова Ю.Е. по фармакологическим и клиническим исследованиям лекарственного препарата для ветеринарного применения «Азициклин» будут использованы при составлении инструкции по применению вышеуказанного препарата.

Генеральный директор,  
д.в.н., профессор,  
академик РАН



С.В. Енгашев

Исполнитель: Филимонов Д.Н.  
тел.: +7 (495) 721-49-82  
e-mail: nauka2@vetmag.ru



УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Руководителя Россельхознадзора

---

---

---

## ИНСТРУКЦИЯ (ПРОЕКТ)

по применению Азициклина для лечения заболеваний бактериальной и микоплазменной этиологии сельскохозяйственных животных и птицы, кошек, собак, кроликов и пушных зверей

(Организация-разработчик: ООО «НВЦ Агроветзащита», г. Москва)

### I. Общие сведения

1. Торговое наименование лекарственного препарата: Азициклин (Azicyclin).

Международное непатентованное и химическое наименование: доксициклин, азитромицин, 3-(2,2,2-триметилгидразиний) пропионат-2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина дисукцинат.

2. Лекарственная форма: порошок и капсулы для орального применения.

Азициклин в 1 г препарата содержится в качестве действующих веществ азитромицина дигидрат – 140 мг, доксициклина гиклат – 70 мг, эмидонола – 250 мг, а также вспомогательные вещества: поливинилпирролидон-30 – 410 мг, лецитин – 70 мг, стеарилфумарат натрия – 10 мг, ферол-А – 50 мг. По внешнему виду препарат представляет собой водорастворимый порошок желтого цвета.

3. Выпускают препарат расфасованным в желатиновые капсулы-контейнеры по 100, 125, 250 мг; в саше по 2; 3; 4; 5 г; в пакеты из многослойной бумаги по 500 и 1000 г; в полимерные банки по 250, 500 и 1000 г; в ведра по 5, 10, 15 кг, укупоренные натягиваемыми крышками; по 5, 10, 15 кг в многослойные бумажные мешки.

Желатиновые капсулы-контейнеры упаковывают в блистеры из фольги по 6, 10 и 12 штук или в полиэтиленовые банки по 25, 50, 100, 200 капсул. Блистеры по 1, 2, 3, 4 штук упаковывают в индивидуальные картонные пачки вместе с инструкцией по применению.

Саше упаковывают в картонные пачки по 2, 4, 6, 10, 12 штук вместе с инструкцией по применению.

Срок годности лекарственного препарата при соблюдении условий хранения – 2 года со дня производства.

Запрещается применение Азициклина по истечении срока годности.

4. Хранят Азициклин в закрытой упаковке производителя, в защищенном от света и влаги месте, отдельно от продуктов питания и кормов, при температуре от 2<sup>0</sup>С до 25<sup>0</sup>С.

5. Лекарственный препарат следует хранить в местах, недоступных для детей.

6. Неиспользованный лекарственный препарат утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.

## II. Фармакологические свойства

7. Азициклин относится к комбинированным антибактериальным лекарственным препаратам.

Доксициклин является полусинтетическим антибиотиком тетрациклиновой группы третьего поколения и активен в отношении следующих микроорганизмов: *Bordetella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, *Haemophilus* spp., *Pasteurella* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Clostridium perfringens*, *Chlamydia* spp., *Rickettsiae* spp., а также *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma hyopneumoniae*. Бактериостатическое действие доксициклина связано с угнетением активности энзимов, катализирующих связывание аминокетил-РНК с рибосомальными акцепторами.

Азитромицин является полусинтетическим антибиотиком, первым представителем подкласса азалидов группы макролидов. Действует бактериостатически, связываясь с 50S-субъединицей рибосом, угнетает пептидтранслоказу на стадии трансляции, подавляет синтез белка. Действует на вне- и внутриклеточных возбудителей. Активен в отношении грамположительных микроорганизмов: *Streptococcus* spp., *Staphylococcus epidermidis*, *St. aureus*; грамотрицательных бактерий: *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Legionella pneumophila*, *Haemophilus ducreyi*, *Campylobacter jejuni*, *Neisseria gonorrhoeae* и *Gardnerella vaginalis*; некоторых анаэробных микроорганизмов: *Bacteroides bivius*, *Clostridium perfringens*, *Peptostreptococcus* spp; а также *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycobacterium avium* complex, *Ureaplasma urealyticum*, *Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*.

Эмидонол – антиоксидант, обладает выраженным гепатопротекторным и антитоксическим эффектом при абсорбции доксициклина и азитромицина из ЖКТ и первом прохождении через печень, когда при лечебных дозах достигаются высокие пиковые концентрации в кровотоке.

После перорального введения препарата доксициклин хорошо всасывается в желудочно-кишечном тракте и проникает в органы и ткани животного, достигая максимальных концентраций в сыворотке крови через 1-2 часа. Выводится из организма главным образом с желчью и мочой.

Азитромицин при приеме внутрь быстро всасывается в желудочно-кишечном тракте, распределяется по тканям и обладает длительным периодом полувыведения (50 часов). Максимальные концентрации в крови отмечают через 2 часа. Выводится из организма главным образом с желчью и мочой.

Эмидонол после перорального введения быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта и распределяется в органах и тканях животного, в печени подвергается биотрансформации, выводится из организма в основном с мочой в виде глюкуронконъюгатов и в незначительном количестве в неизмененном виде; период полувыведения составляет от 0,8 ч до 1,6 ч.

По степени воздействия на организм относится к малоопасным веществам (4 класс опасности по ГОСТ 12.1.007-76), в терапевтических дозах не оказывает эмбриотоксического, тератогенного, канцерогенного и sensibilizing действия.

### III. Порядок применения

8. Азициклин назначают сельскохозяйственным животным (крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади, свиньи) и птицам, собакам, кошкам и пушным зверям с лечебной целью при бактериальных инфекциях дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, инфекциях кожи и мягких тканей, при хирургических вмешательствах и их осложнениях.

9. Противопоказанием к применению является повышенная индивидуальная чувствительность животного к компонентам препарата. Запрещается применять Азициклин курам-несушкам в виду накопления доксициклина и азитромицина в яйце, а также животным с выраженной почечной и печеночной недостаточностью.

10. Азициклин применяют животным перорально индивидуально или групповым способом в смеси с кормом или с водой для поения в дозах (если применяют капсулы – принудительно на корень языка), указанных в таблице, с учетом веса и вида животных, в течение 3-5 дней 1 раз в сутки, при тяжелых случаях заболевания до 7 дней. Перед применением Азициклина готовят водный раствор препарата в отношении 1:2 (1 г Азициклина на 2 мл воды), затем полученную эмульсию растворяют в необходимом количестве воды (100-1000 мл) или корма, перемешивают до визуальной однородности и задают животным. Для кошек, щенков, собак мелких пород перед употреблением капсулу рекомендуется раскрыть и перемешать с кормом или питьем.

Вид животного	Доза Азициклина		Доза азитромицина, мг/кг массы животного	Доза доксициклина, мг/кг массы животного	Доза эмидонола, мг/кг массы животного
	г /10 кг массы животного	количество капсул (г)/на животное			
Крупный рогатый скот, лошади	0,1	-	1,4	0,7	2,5
Мелкий рогатый скот, телята, жеребята, поросята*	0,3	-	4,2	2,1	7,5
Свиньи	0,2	-	2,8	1,4	5,0
Куры, индейки, гуси, утки**	0,5-0,6 (0,5-0,6 кг/т воды)	-	7,0-8,4	3,5-4,2	12,5-15,0
Кошки, собаки мелких пород весом до 5 кг, пушные звери, кролики	0,5	1(0,25)	3,5	1,7	6,2
Собаки весом 5-10 кг	-	1-2 (0,25-0,5)	3,5-7,0	1,7-3,5	6,2-12,5
Собаки 10-20 кг	-	2-3 (0,5-0,75)	7,0-10,5	3,5-5,25	12,5-18,7
Собаки 20-30 кг	-	3-4 (0,75-1,0)	10,5-14,0	5,25-7,0	18,7-25
Собаки 30-40 кг	-	4-5 (1,0-1,25)	14,0-17,5	7-8,75	25-31,2
Собаки 40-50 кг	-	5-6 (1,25-1,5)	17,5-21	8,75-10,5	31,2-37,5

\*Если масса животных менее 10 кг рекомендуется 3 г препарата растворить в 100 мл воды и выпаивать животному водный раствор Азициклина в дозе 1 мл/кг массы тела.

\*\* При лечении небольшого поголовья сельскохозяйственной птицы рекомендуется 5 г Азициклина растворить в 10 л воды и задать птице.

В период лечения животные должны получать только воду, содержащую лекарственный препарат. Лечебный раствор готовят ежедневно из расчета суточной потребности животных в воде.

11. В случае передозировки препарата возможно уменьшение потребления корма и воды, снижение привесов.

12. Особенности действия лекарственного препарата при его первом применении и отмене не выявлено.

13. Следует избегать пропуска очередной дозы препарата, так как это может привести к снижению терапевтической эффективности. В случае пропуска одной дозы необходимо ввести препарат как можно скорее.

14. При применении Азициклина в соответствии с настоящей инструкцией побочных явлений и осложнений, как правило, не наблюдается.

В случае появления аллергических реакций использование препарата прекращают и назначают антигистаминные препараты и симптоматическое лечение.

15. Не допускается одновременное применение Азициклина с миорелаксантами, бактерицидными антибиотиками пенициллиновой и цефалоспориновой групп, минеральными добавками и лекарственными препаратами, содержащими соли кальция, магния, железа и алюминия, ввиду возможного снижения антибактериальной активности препарата.

16. Убой сельскохозяйственных животных на мясо разрешается не ранее, чем через 8 суток, птицы – не ранее, чем через 7 суток после последнего применения препарата. Мясо животных, вынужденно убитых до истечения указанного срока, может быть использовано в корм пушным зверям.

#### IV. Меры личной профилактики

17. При работе с Азициклином следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными препаратами. Во время работы запрещается курить, пить и принимать пищу. По окончании работы руки следует вымыть теплой водой с мылом.

18. При случайном контакте лекарственного препарата с кожей или слизистыми оболочками глаз их необходимо промыть большим количеством воды. Людям с гиперчувствительностью к компонентам препарата следует избегать прямого контакта с Азициклином. В случае появления аллергических реакций или при случайном попадании препарата в организм человека следует немедленно обратиться в медицинское учреждение (при себе иметь инструкцию по применению препарата или этикетку).

19. Пустую тару из-под лекарственного препарата запрещается использовать для бытовых целей, она подлежит утилизации с бытовыми отходами.

20. Организация-производитель: ООО «НВЦ Агроветзащита С-П.»; 141300, Россия, Московская область, г. Сергиев Посад, Центральная ул., 1.