

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР - ВСЕРОССИЙСКИЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ВЕТЕРИНАРИИ ИМЕНИ К.И. СКРЯБИНА И Я.Р. КОВАЛЕНКО РОССИЙСКОЙ
АКАДЕМИИ НАУК»
(ФГБНУ «ФНЦ ВИЭВ РАН»)

На правах рукописи

Постевой Алексей Николаевич

**ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФАСЦИОЛЁЗА *FASCIOLA HEPATICA*
L., 1758 В ЦЕНТРАЛЬНОМ РЕГИОНЕ РОССИИ
(ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИИ И МЕРЫ ПРОФИЛАКТИКИ)**

03.02.11 – паразитология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата ветеринарных наук

Научный руководитель:
доктор ветеринарных наук
О.Н. Андреев

Москва – 2020

СОДЕРЖАНИЕ

1.	ВВЕДЕНИЕ	4
2.	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
2.1.	Фасциолёз жвачных в зарубежных странах.....	13
2.2.	Распространение фасциолёза животных на территории Российской Федерации и странах СНГ.....	18
2.3.	Фасциолёз в условиях Центрального региона России.....	29
2.4.	Моллюски – промежуточные хозяева возбудителя <i>Fasciola hepatica</i> ..	31
2.5.	Моделирование естественных условий обитания малого прудовика (биотопов) в условиях лаборатории.....	40
2.6.	Моделирование фасциолёза в условиях лаборатории.....	43
2.7.	Моллюскоцидные препараты растительного происхождения в профилактике инвазий.....	45
3.	СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ	
3.1	Материалы и методы.....	49
4.	РЕЗУЛЬТАТЫ	
4.1.	Современная эпизоотическая ситуация по фасциолёзу жвачных в Центральном регионе России.....	56
4.1.1.	Сезонная и возрастная динамика выявления фасциолёзной инвазии у дефинитивных хозяев фасциол.....	59
4.2.	Создание и изучение искусственного биотопа моллюсков - малого прудовика <i>Lymnaea truncatula</i>	64
4.2.1.	Создание и требования к микроклиматическим параметрам искусственного биотопа моллюска – малого прудовика <i>L. truncatula</i>	67
4.2.2.	Культивирование промежуточного хозяина – моллюска <i>L. truncatula</i> трематоды <i>F. hepatica</i> в условиях лаборатории.....	69
4.2.3.	Фасциолёзная инвазия у моллюска – промежуточного хозяина. Некоторые биологические свойства <i>F. hepatica</i> в отношении малого прудовика <i>L. truncatula</i>	72

4.2.4.	Получение адолескариев фасциол в условиях лаборатории.....	81
4.2.5.	Грызуны – как лабораторная модель фасциолёза	85
4.3.	Моллюскоцидные препараты в профилактике фасциолёзной инвазии.....	90
4.3.1.	Современные моллюскоцидные препараты растительного происхождения	91
4.3.2.	Эффективность моллюскоцидного действия препарата на основе Мыльнянки лекарственной – <i>Saponaria officinalis</i>	103
5.	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	104
6.	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	109
7.	ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ	111
8.	СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ	113
9.	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	115
10.	ПРИЛОЖЕНИЕ	137

1. ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Животноводство – вторая по важности отрасль сельского хозяйства. От того насколько хорошо оно будет развито зависит благосостояние страны в целом.

Это в значительной степени сдерживается инфекционными и инвазионными заболеваниями сельскохозяйственных животных. Особо большой ущерб животноводству причиняют трематодозные заболевания, в том числе фасциолёз.

Трематода *Fasciola hepatica* L., 1758 – широко распространенный возбудитель болезни млекопитающих (особенно жвачных), принадлежащий к многочисленным видам гельминтов, которые паразитируют в широком круге хозяев.

Фасциолёз по настоящее время, остается актуальным гельминтозным заболеванием, одним из массовых зоонозов, регистрируемым в РФ, но и других странах мира по ветеринарной и медицинской статистике.

По ветеринарной отчетности в России при убое на мясокомбинатах продуктивного скота в среднем 9-11 % животных инвазированы фасциолами. Трематода *F. hepatica* поражает и дикие виды животных (лось, косуля, дикая свинья, заяц русак, заяц беляк, бобр европейский и другие). Известно, что паразитируя в организме зараженного животного, фасциолы открывают путь для внедрения в ткани органов вирусам и бактериям. В комплексе они приводят к комбинированным заболеваниям и гибели животного.

Фасциолёзная инвазия жвачных широко распространена в разных природно-климатических зонах РФ и в других странах мира. О широком распространении фасциолёза животных сообщали Сазанов А.М. [106], Демидов Н.В. [45], Архипов И.А. [7], Горохов В.В. [30, 32, 34], Атаев А.М. [11], Кузьмичев В.В. [73], Коляда Е.Е. [65], Лошкарева В.В., Архипов И.А. [76], Петров Ю.Ф. с соавт. [96], Сафиуллин Р.Т. с соавт. [113], Хромов К.А. [127], Успенский А.В. [126], Пельгунов А.Н. [90], Горохов В.В. с соавт. [39].

Разумеется, проведением одних профилактических дегельминтизаций продуктивного скота невозможно добиться значительного снижения заболеваемости фасциолёзом, так как они проводятся не регулярно и не поголовно. В каждой природно - климатической зоне сроки дегельминтизации животных различны и основаны на особенностях биологии фасциолы, её особенностях развития в промежуточном хозяине и местных производственных условиях животноводства (начало выгона животных на пастбище, продолжительность выпасного сезона, обилие атмосферных осадков). Иногда, вышеизложенные аспекты способствуют усиленному размножению моллюсков малого прудовика, развитию в них личинок фасциолы, появлению интенсивного заражения животных трематодозом.

Исходя из вышеизложенного видно, что существующие профилактические меры и средства против фасциолёза недостаточно эффективны. Только упомянутыми методами окончательно осуществить полное оздоровление животных от паразитарного заболевания в большинстве случаев не представляется возможным.

Цель и задачи. Цель нашей работы, изучить циркуляцию фасциолёзной инвазии животных в условиях Центрального региона России (по данным копрологических исследований и послеубойной диагностики) с учетом влияния на зараженность фасциолами сезона года, возраста животных; развитие инвазии у промежуточного хозяина – моллюска малого прудовика (*Lymnaea truncatula*); эффективность использования моллюскоцидного препарата растительного происхождения.

Для реализации поставленной цели, необходимо решить следующие задачи:

- исследовать современную ситуацию по циркуляции инвазии, вызванной возбудителем *F. hepatica*, с учетом влияния сезона года, вида, возраста животных;
- изучить распространение промежуточного хозяина *F. hepatica* – моллюска *L. truncatula* и сезонную динамику зараженности моллюсков личиночными стадиями *F. hepatica*;
- осуществить моделирование фасциолёза на лабораторных животных;

- разработать эффективные, безопасные формы моллюскоцидного средства растительного происхождения на основе Мыльнянки лекарственной (*Saponaria officinalis*) и определить моллюскоцидную эффективность его действия.

Научная новизна. Получены современные данные по циркуляции инвазии, вызванной *F. hepatica*. В условиях Центрального региона России крупный рогатый скот инвазирован возбудителем *F. hepatica* от 2,7 до 37,5 %, при интенсивности инвазии фасциол в печени от 7 до 41 трематоды на животное. Максимальная зараженность крупного рогатого скота фасциолами отмечена в зимний период.

Изучены экологические особенности инвазии трематод в промежуточных хозяевах – моллюсках.

Разработаны формы экологически безопасного, доступного для производства, и эффективного средства моллюскоцидного действия растительного происхождения на основе Мыльнянки лекарственной (*Saponaria officinalis*). Одновременно это средство характеризуется достаточной дешевизной производства.

Научная новизна исследований подтверждена патентом № 2637856 на изобретение бюл. № 34 от 07.12.2017 г.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты изучения циркуляции инвазии у крупного рогатого скота, вызванной *F. hepatica* в Центральном регионе России и эффективность моллюскоцидного действия препарата на основе Мыльнянки лекарственной, могут быть успешно использованы при разработке и внедрении системы мер профилактики и борьбы с трематодозами животных. Методические рекомендации позволяют провести детальные лабораторные наблюдения процессов биологического развития личиночных форм трематоды *F. hepatica*.

Положения, выносимые на защиту:

1. Современная ситуация по циркуляции инвазии животных, вызванной *F. hepatica*, с учетом влияния сезона года, вида и возраста животных;
2. Моделирование фасциолёза на лабораторных животных;

3. Экологические особенности циркуляции *F. hepatica* в организме промежуточных хозяев;

4. Эффективные формы моллюскоцидного средства растительного происхождения на основе Мыльнянки лекарственной (*Saponaria officinalis*), для дезинвазии объектов окружающей среды.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов определяется использованием в работе общеизвестных и общепринятых (как в Российской Федерации, так и в зарубежных странах) научных методов исследований в паразитологии.

По материалам диссертационной работы опубликовано 20 научных статей, из которых 7 в изданиях, рецензируемых ВАК РФ, в которых изложены основные положения и выводы по изучаемым вопросам. Получен патент на изобретение.

Материалы диссертационной работы были доложены и представлены на: IX Международной научно-практической конференции. (Санкт-Петербург. 2015 г.); 5-й международной научно-практической конференции «Биоэкологическое краеведение: мировые, российские и региональные проблемы». (Самара. 2016 г.); научно-практической конференции «Современные проблемы общей и прикладной паразитологии». (Воронеж. 2017 г.); международной научной конференции «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». (Москва. 2016, 2017, 2018 г.); 7-ой международной научно-практической конференции, посвященной 120-летию со дня рождения д.б.н., профессора С.М. Шиклеева и д.м.н., профессора, член – корреспондента АМН СССР М.В. Сергиевского. (Самара, 2018 г.).

Личный вклад соискателя. Представленная диссертационная работа является результатом 4 – летних научных исследований автора, проведенных в лаборатории мониторинга и прогнозирования паразитозов ФГБНУ «ВНИИП им. К.И. Скрябина» в период с 2015 по 2018 г., в 2018 г. – «Всероссийского научно-исследовательского института фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений» – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-

исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук».

Исследования по трематодофауне животных в Центральном регионе России, циркуляции трематодозной инвазии у животных, выполнены соискателем лично. В опубликованных работах по отдельным вопросам совместно с В.В. Гороховым, О.Н. Андреевым, Е.В. Пузановой, А.Н. Карамновым, А.В. Даниленко, основная часть исследований выполнена соискателем, и соавторы не возражают в использовании результатов совместных исследований диссертантом А.Н. Постевым.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 139 страницах компьютерного текста. Состоит из введения, обзора литературы по изучаемым вопросам и собственных исследований, состоящих из описания материалов и методов, а также результатов исследований (11 глав), обсуждения, заключения, практического предложения и списка литературы, содержащего 141 отечественных и 71 иностранных источников. Работа иллюстрирована 16 таблицами и 20 рисунками. Приложение на 3 страницах.

Особая благодарность

Выражаю искреннюю благодарность и признательность научному руководителю моей диссертации доктору ветеринарных наук Олегу Николаевичу Андреенову и своему учителю Заслуженному деятелю науки Российской Федерации, доктору биологических наук, профессору Владимиру Васильевичу Горохову за постоянное внимание к работе и эффективные и полезные советы для её реализации.

2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Фасциола вызывает воспалительный процесс, являющийся следствием, как механического действия, так и раздражения тканей токсинами, действует угнетающе на функции пищеварительной системы, подавляет защитные функции организма животного, что облегчает проникновение возбудителей заболеваний иной этиологии (вирусы, бактерии, простейшие) и способствует комбинированным заболеваниям [46].

Печеночно-глистная болезнь известна с 1379 года. Вначале фасциолу называли *Distomumepaticum* – печеночная дистома, а заболевание – дистоматозом. В народе названий этого заболевания очень много, что свидетельствует о распространенности и давней его известности (желчно-глистная болезнь, гнилостная болезнь, мотилица, лизовец и т.д.) [119].

Первые сведения о трематодах встречаются в 1626 – 1698 гг. в работах итальянского ученого Francesco Redi [190].

В 1818 г. Vojanus R. [153] обнаружил у *Lymnaea stagnalis* живые трубки (редий), которые содержали зародыши церкарий. Он назвал их «желтыми гельминтами». В 1819 г. этот исследователь доказал, что редии являются зародышами трематод. Большое значение – это открытие имело для последующего изучения биологии развития возбудителя инвазии [119].

Первых успехов в исследовании трематод добился Mehlis V.V., который в 1831 г. показал, что яйца некоторых дистом содержат инфузориоподобный эмбрион, снабженный мерцательным эпителием, иногда имеющий глазное пятно, плавающий при выходе из яйцевых оболочек, как инфузории. Речь шла о мирацидиях, развивающихся из яиц, отложенных в воду. По присутствию у них мерцательного эпителия и глазного пятна можно было предположить, что они предназначены жить некоторое время на свободе [119, 182].

Эти открытия подтверждены Siebold S. [198], который обнаружил инфузориоподобный эмбрион у *Monostomum mutabile*, подобный «желтому гельминту» [119].

Церкарии впервые были описаны Swammerdam L. в 1737 г. Несмотря на сходство между церкариями и дистомами, никто не сделал попытки выяснить характер их связи [195]. Только в 1823 г. Ehrenberg S. [162] окончательно отнес их к дистомам (цитировано по Schwarze E.) [194].

В 1842 г. Steenstrup J. определил новое направление в изучении трематод – исследование смены поколений в их жизненном цикле. При этом показал, что спороцисты и редии происходят из мирацидиев трематод, а церкарии являются личинками сосальщиков [119, 199].

Исследования Steenstrup J. указали направление и цель дальнейших работ в этой области. За немногими исключениями, все опубликованные с тех пор работы о юных формах дистом обнаруживают тенденцию к установлению их связи друг с другом и с животными, размножающимися половым путем [119, 199]. Сюда относятся исследования Beneden P. [152], Wagener G. [205], Pagenstecher R. [187], Leuckart R. [172], Thomas A. [203], Schwarze E. [194].

В 1815 г. Weinland E. [207] обнаруживает в печени *Lymnaea truncatula* церкарий и высказывает предположение, что это личинка фасциолы, и малый прудовик является промежуточным хозяином фасциолы. В 1883 г. появляются две работы: Leuckart R. [172] в Германии и Thomas A. [203] в Англии, в которых детально расшифровывается цикл развития фасциолы и устанавливается промежуточный хозяин – *Galba truncatula*, Muller (*Lymnaea minuta*, Drap.) [119].

Вопросам сперматогенеза, овогенеза, оплодотворения, образования яиц, эмбрионального развития фасциолы, а также цикла развития зародышевых клеток посвящены работы (Ahrens H.P. [148], Henneguy L. [166, 167], Schubmann W. [193], Ortmann W. [186], Schellenberg A. [192], Railliet A., Moussu G., Henry A. [188], Weiland E., Brand T. [207], Mattes O. [181], Kouri P., Nauss R. [170], Yosufzai H. K. [209, 210], Bednarz S. [151]) [119].

Большой вклад в изучение проблем фасциолёза сделали российские ученые. Исследование печеночной двуустки провел в дореволюционной России Сеницын Д.Ф. [114]. Ему удалось уточнить закономерности развития фасциолы в definitivoном хозяине. Появился ряд фундаментальных работ: Скрябина К.И.,

Шульца Р.С. [116]; Пановой Л.Г. [88]; Здун В.И. [55]; Демидова Н.В. [46]; Гинецинской Т.А. [28] в которых рассматриваются отношения паразита с хозяином, обеспечивающих его переживание и развитие [119].

Изучение трематод на различных стадиях развития имеет помимо большого теоретического, еще и практическое значение в аспекте решения вопросов борьбы с фасциолёзом. Способы борьбы, прежде всего, определяются и вытекают из биологии паразита, цикл жизни которого включает большое количество звеньев, связанных как между собой, так и с окружающей средой [119, 131].

Известны способы пастбищной профилактики фасциолёза путем разрыва биологического цикла фасциол, включающие уничтожение пресноводных моллюсков – промежуточных хозяев фасциол с применением моллюскоцидов синтетического и растительного происхождения различных по структуре и механизмам действия [131]. Наиболее доступным и часто применяемым моллюскоцидом является сульфат меди (медный купорос), обладающий значительной моллюскоцидной активностью. Однако он высокотоксичен в отношении рыб, земноводных (лягушки, тритоны), гидробионтов и растительности, обладает кумулятивными свойствами и долго сохраняется в водоемах. Остаточное моллюскоцидное действие хлористой и коллоидной меди в чистой воде продолжается до 16-25 месяцев, а в воде, содержащей органические вещества, – 6-19 месяцев [31]. Медный купорос вместе с другими техногенными загрязнителями, скапливающимися на пастбищах вследствие промышленных выбросов, может усиливать токсическое воздействие и являться причиной отравлений у выпасающихся животных [31].

Менее токсичными и быстро разрушающимися во внешней среде являются препараты из группы органических красителей - бриллиантовый зеленый, метиловый фиолетовый и кристаллический фиолетовый, обладающие моллюскоцидными свойствами, преимущественно на моллюсков сем. *Lymnaeidae* и *Planorbidae*. Водные растворы препаратов применяют для влажной дезинвазии пастбищ, скотопрогонов, рыбоводных прудов с профилактической целью и в период проведения комплекса лечебно-оздоровительных мероприятий при

фасциолезе и парамфистоматозах жвачных, при сангвиниколезе, диплостомозе, постдиплостомозе и церкариозах прудовых рыб из расчета 5-6 г/м² дезинвазируемой поверхности [31].

Из растительных препаратов Горчаков В.В. изучил моллюскоцидные свойства препаратов дуба обыкновенного *Quercus robur* L. [40], ели европейской *Picea abies* L. [41] и бадана толстолистого *Bergenia crassifolia* [42]. Известные растительные препараты эффективны против моллюсков видов *Lymnaea goupili*, *L. subangulata*, *L. truncatula*, *L. ovata*, *L. peregra*, *L. stagnalis*, *L. palustris*, *Planorbis planorbis*, *Planorbarius corneus* и *L. auricularia*, являются экологически "чистыми" и слабо- и очень слаботоксичными относительно млекопитающих, рыб, земноводных, гидробионтов и растительности [131].

17 – мая 1968 г. в Варшаве на международной конференции по фасциолёзу Zarnowski E. [211] отмечал, что за последние 20 лет лаборатории разных стран всесторонне изучали биологию возбудителя, эпизоотологию и эпидемиологию фасциолёза животных и человека. Однако остается актуальной необходимость дальнейших исследований особенностей развития фасциолы в организме промежуточного и окончательного хозяев [119].

Следует заметить, что к фасциолёзам восприимчивы крупный и мелкий рогатый скот, лошади, ослы, мулы, верблюды, свиньи, кролики, морские свинки, золотистые хомяки, белые и хлопковые крысы, мыши и многие дикие животные, а также и человек [119, 131].

Трематода *F. hepatica* имеет листовидную форму тела. Длина её 20-30 мм, ширина 8-12 мм. Тегумент в передней части тела снабжен острыми шипиками. Передняя часть тела трематоды образует выступ, на котором расположены ротовая и брюшная присоски и между ними открываются половые отверстия. Позади брюшной присоски находится матка (в виде розетки), наполненная яйцами, а за ней – яичник, напоминающий «дерму» оленьего рога. Боковые поля, от переднего до заднего конца, заполнены желточниками гроздевидного строения [119].

Среднюю и заднюю части тела паразита занимают два древовидно –

разветвленных семенника. Кишечные стволы так же древовидно – разветвлены. *F. gigantica* отличается от *F. hepatica* большими размерами тела (40-75 мм длина и 5-12 мм ширина). Боковые края (*F. gigantica*) почти параллельные, что придает ему щитовидную форму. Передний конический выступ является продолжением тела, в результате чего не образуются «плечики» в отличие от *F. hepatica*. Яйца фасциол овальной формы, желтого цвета, длиной 0,12-0,15 мм, шириной 0,07-0,09 мм [46, 119].

Мирацидий развивается в яйце (эмбриогония) за 2-4 недели. В моллюске личинка гельминта в естественных условиях развивается за 2,5-3 месяца, проходя через три основные стадии партеногенеза. Вышедшие из моллюска церкарии превращаются в адолескарии (цистогония). Заражение дефинитивных хозяев происходит при заглатывании инвазионной формы трематод – адолескария фасциолы [46, 119].

В организме окончательного хозяина попав в орган – мишень (печень) адолескарии развиваются до половозрелой стадии фасциолы за 3-4 месяца [131].

Продолжительность жизни фасциолы в печеночных ходах хозяина не превышает 5 лет [46].

Фасциолы, паразитируя в организме крупного рогатого скота, приводят к тяжелым патологическим изменениям, часто необратимым, а в период острого течения болезни нередко вызывают гибель животных [120].

Известны спорадические случаи их паразитирования в печени и желчных протоках человека. В работе Сорокиной Н.П., Москвина А.С. и Горохова В.В. [121] отмечается фасциолёз человека более чем в 42-х странах мира. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) количество случаев заболевания человека фасциолёзом достигло 2594 [119].

2.1. Фасциолёз жвачных в зарубежных странах

Обзор специальной международной литературы свидетельствует о широком распространении фасциолёза у жвачных в зарубежных странах.

По данным зарубежных авторов на Азиатском материке фасциолёзная инвазия отмечается во всех странах среди сельскохозяйственных и диких животных [206]. В странах Южной, Юго-Восточной и Восточной Азии значимое количество крупного рогатого скота поражено фасциолами. Так же трематода распространена у овец и коз на Ближнем и Среднем Востоке в Восточной Азии. По публикациям зарубежных авторов в Иране гельминтоз регистрируют среди животных от 4 до 11,2 % случаев. В регионах Индонезии ЭИ животных фасциолами составляет 90 %, в Восточном Пакистане – 75 %. На Ближнем Востоке фасциолёз наносит такой огромный экономический ущерб сельскохозяйственным животным, что скотоводство в некоторых районах считается не выгодным. В Индии по результатам гельминтокопрологический исследований фекалий жвачных выявлено, что фасциолёзом инвазирован крупный рогатый скот на 18,8 %, овцы на 25,7 %, козы на 20,2 % Бакулов И.А., Таршис М.Г. [13], Ahrens H.P. [145], Levieux D., Levieux A. [173]; Shahlapour A.A., Massound J., Nazary J.H., Rahnou M.N. [197]; Ratnaparkhi M.R., Shastri U.V., Narladkar B.W., Deglookar N.M., Digrask S.U. [189]; Kumar S., Sharma M.C. [171]; Adams P.N. [142]; Afshan K. [144]; Charlier J. [157]; Cwiklinski K. [158, 159]; Di Maggio L. S. [161]; Molina-Hernandez [184].

Чалаби Кхдер Ниязи Нуральдин [83] в условиях Ирака изучил сезонную динамику зараженности овец *F. hepatica*. Максимальная ЭИ отмечена осенью и колеблется по данным автора от 6,3 до 13,5 %.

Фасциолёз зарегистрирован в большинстве стран Африки среди многих видов сельскохозяйственных животных – крупного и мелкого рогатого скота, верблюдов, свиней, цельнокопытных. По данным Babalola D.T., Schillhom van Veen T. [149], наиболее широко фасциолёзная инвазия распространена в областях, расположенных южнее Сахары. Авторы исследовали крупный рогатый скот на мясокомбинате г. Баучи (Северо-восточной Нигерии), в результате исследований 14270 печеней животных зараженность трематодой *F. gigantica*, которая распространена на данном континенте, составила 70 %, пик инвазии отмечали в марте-апреле и сентябре-октябре.

По данным Adeldokun O.A., et al. [143] ЭИ – 13,6-13,8 % сельскохозяйственных животных фасциолами в хозяйствах Ибадана (Нигерия) отмечается в сентябре-декабре.

В оазисе Тузур (Тунис) Ayadi A. и Rachid B.M.S. [148] выявили фасциолёзную инвазию у 3 % крупного рогатого скота, 44 % овец и 11 % коз, серологическим методом в реакции встречного иммуноэлектрофореза. При изучении местных видов моллюсков, личинки трематоды обнаружены в 2 % случаев, инвазированные прудовики встречались на протяжении всего времени исследований. При исследовании местных видов лимнеид паразиты обнаружены в 2 % случаев, причем зараженные моллюски встречались на протяжении всего периода наблюдений.

В Марокко ЭИ жвачных фасциолёзом составила 17,1-23,8 % [173].

Maingi N. и Mathenge S.N. [177] сообщают о фасциолёзной инвазии на скотоводческих фермах в Кении, по данным авторов летальность овец составила 5-55 %. Полное гельминтологическое вскрытие павших животных показало асцит, увеличение печени, гидроторакс и у 45 % перитонит.

В Европе фасциолёз отмечается почти повсеместно. По данным FAO-WHO-OIE, трематодоз регистрируется в 28 странах [13]. Бакулов И.А. и Таршис М.Г. [13] изучили ареал фасциолёза в Европе, который тесно связан с обитанием промежуточного хозяина паразита моллюска – *L. truncatula* в этой части света. По сообщению авторов распространения и степень поражения фасциолёзом сельскохозяйственных животных неодинакова.

По сообщениям Петкова А. и др. [91], научно-производственным объединением «Ветеринарное дело» проведен анализ статистических данных о распространении и сезонной динамики фасциолёза у крупного рогатого скота и овец в Болгарии за 1966-1976 гг. Наиболее сильно фасциолёз распространен в высокогорных районах и на Дунайской равнине, а также в равнинных районах Южной Болгарии на территориях с высоким уровнем подпочвенных вод. ЭИ и ИИ животных значительно увеличиваются в осенне-зимние месяцы, причем в октябре-ноябре и в январе-феврале фасциолёз выявлен у многих животных, в том

числе у молодняка 4-5 недельного возраста.

Петков А., Русев И. [92] изучали в разных зонах Болгарии особенности эпизоотологии фасциолёза. Больше всего мигрирующих преимагинальных фасциол обнаружено в печени в октябре-ноябре. ИИ половозрелыми фасциолами составила в июле-сентябре – 1-49, в октябре-ноябре – 45-97.

В 1982 году в регионе Ханнут (Бельгия) наблюдали энзоотию фасциолёза среди свиноматок. При копрологическом исследовании обнаружили яйца фасциол, а при вскрытии печени – половозрелых трематод [160].

Во Франции наиболее заражены фасциолами животные в западных, центральных и южных районах – 13-20 % [175, 176]. На территории страны по сообщению Mage С. [175] при исследовании 243 скотоводческих ферм 46 % неблагополучны по фасциолёзу. Максимальная ЭИ – 59 % отмечена с ноября по декабрь.

В Нидерландах у 80 % крупного рогатого скота (из числа обследованных) зафиксирован фасциолёз [155].

В Италии (1988 г.) было проведено исследование на 84 фермах и в результате фасциолёз обнаружен у скота молочного (21 %) и мясного (13,8 %) направлений [150].

Значительные очаги выявлены в Среднем Уэльсе (Великобритания) и Северной Ирландии. Пораженность трематодозом крупного рогатого скота в Северной Ирландии составляет 45 %, овец 15 % [164].

В Словакии в период с 1996 по 1999 г.г. средняя ЭИ составила 6,9 % (от 1,9 % в 1996 году до 10,4 % в 1999 году) [212].

В Польше в 1998-1999 годах наибольшее поражение фасциолёзом было отмечено у коров в областях Myszynick – 20 % и на фермах северо-восточной Варминско-Мазурской области – Olsztyn – 8,7-16,7 %. Наименьшее поражение было отмечено на западе Варминско-Мазурской области – Olsztyn 2,2-3,3 % [183].

В Северной Америке гельминтозы занимают ведущую роль среди инвазионных болезней сельскохозяйственных животных. Наиболее значимый экономический ущерб скотоводству приносит фасциолёз, который широко

распространен в различных штатах.

Wescott R.V. [208] в штате Вашингтон (США) обследовал 100 стад крупного рогатого скота. При этом 15 из них классифицированы как неблагополучные, 13 – подозреваемые и 72 – благополучные по фасциолёзу. При копрологическом исследовании пяти стад, показавших положительные результаты ELISA на фасциолёз, у большинства животных обнаружены яйца *F. hepatica*. Последние не выявлены в двух стадах, которые оказались серонегативными.

В штатах Флорида, Техас, Луизиана США фасциолёз крупного рогатого скота, вызываемый *F. hepatica* и *F. magna*, встречается в форме энзоотий. В штате Техас ЭИ составляет 20 %. Животные заражаются, в основном, в феврале-июле. [146, 147] Минимальный уровень инвазии отмечен осенью [179].

На Северо-западе США Hoover R.S. [168] исследовал сезонное заражение животных фасциолёзом. Автор регистрировал фасциол в печени инвазированных животных, ИИ составила от 5 до 70 фасциол с июля по ноябрь.

В Мексике ЭИ фасциолёзной инвазии у сельскохозяйственных животных составляет 5-50 % и в отдельных случаях 100 % [163].

В Центральной Америке по данным зарубежных авторов фасциолёз регистрировали, на всей территории за исключением Панамы, Гаити, Тринидада и Тобаго.

В странах Южной Америки гельминтоз зарегистрирован в 9 из 12 стран, не отмечается лишь в Гайане и Суринаме. В Уругвае ЭИ достигает 50-60 % среди крупного рогатого скота и овец [178].

В Эквадоре наиболее высокая ЭИ животных наблюдается в 10 горных провинциях [196].

В Перу фасциолёзная инвазия является актуальной проблемой для ветеринарных и медицинских специалистов. На данной территории гельминтозом инвазированы многие виды продуктивного скота, а также лошади, альпака и ламы. Высокая ЭИ 80-90% отмечена у сельскохозяйственных животных в районах Кахамарха на севере, Гуанкайо и Уанкавелика в центре и Куско Пуно на юге страны, а также в Андах на высоте до 4500 м над уровнем моря [191].

В Бразилии фасциолёз впервые был отмечен у сельскохозяйственных животных в штате Рио де Жанейро, на юго-западе страны. В настоящее время гельминтоз регистрируют у крупного рогатого скота, овец, коз, а также у свиней, буйволов и лошадей. ЭИ фасциолёзной инвазией продуктивного скота в некоторых районах составляет от 27,4 % до 63,3 % [204].

В Аргентине одним из самых распространенных гельминтозов среди продуктивного скота является фасциолёз. Инвазия эндемична и распространена с севера страны до центра Патагонии, включая Анды и побережье Атлантики [185].

В Австралии и Океании, где крупный рогатый скот составляет 1,7 % мирового поголовья и 15 % поголовья овец, до 50 % продуктивных животных поражено различными гельминтозами, в том числе и фасциолёзом [13, 153].

2.2. Распространение фасциолёза животных на территории Российской Федерации и странах СНГ

На территории РФ и в странах СНГ к числу распространенных и экономически значимых заболеваний сельскохозяйственных животных относится фасциолёз – *F. hepatica*, который распространен повсеместно, что связано с широким расселением малого прудовика *L. truncatula* промежуточного хозяина трематоды.

В научной литературе, как отечественных, так и зарубежных авторов огромное количество статей посвящено фасциолёзу, трематодозному заболеванию сельскохозяйственных животных.

Большой вклад в изучение эпизоотологии фасциолёзной инвазии животных внесли Скрябин К.И., Шульц Р.С. [116], Демидов Н.В. [45, 46], Сазанов А.М. [109], Горохов В.В. [30], Атаев А.М. [10, 11], Бочарова М.М. [20], Кузьмичев В.В. [74], Шипшев Б.М. [136], Рехвиашвили Э.И. [103], Лошкарева В.В. [77], Кошеваров Н.И. [69], Горохов В.В., Самойловская Н. А., Пешков Р.А. и др. [37], Горохов В.В., Пузанова Е.В. [38] и другие исследователи, сообщавшие о широком распространении фасциолёза сельскохозяйственных животных на территории Российской Федерации.

За предыдущие годы в среднем по стране, по данным копроовоскопических исследований фасциолёзная инвазия крупного рогатого скота регистрировалась в 3,68 % случаях. А по данным ветеринарно-санитарной экспертизе фасциолами заражено 198907 голов сельскохозяйственных животных, в общем, по РФ трематодами инвазировано 32,26 % голов животных [34, 36].

По сведениям Сафиуллина Р.Т. [112] фасциолёз причиняет большой экономический ущерб скотоводству, зараженность крупного рогатого скота фасциолами в РФ составляет, в среднем 18,6 %. Ущерб от данного заболевания складывается из-за недополучения молока в среднем на 20 % – 320 кг в год на одну больную фасциолёзом корову, от снижения прироста массы тела ремонтного молодняка на 27 кг за год. Органолептическими и биохимическими исследованиями установлено, что снижается качество мяса инвазированных животных. Повышается влажность мяса на 4 %, снижается количество жира в 3 раза, а калорийность уменьшается на 100-300 ккал.

Наиболее подробно распространение фасциолёза представлено в монографии Асадова С.М. [8]. По мнению автора, экстенсивность инвазии фасциолёзной инвазией крупного рогатого скота в отдельных регионах достигает 100 %. О высокой степени инвазированности крупного рогатого скота фасциолами в Нечерноземной зоне так же сообщали Мамедов М.С., Крайнева В.В., Смирнов Л.В. [78]. По данным этих авторов ЭИ крупного рогатого скота возбудителем *F. hepatica* составляет 28,3-53,7 %.

В Нижегородской области впервые о фасциолёзе продуктивного скота сообщили Петров А.М., Скворцов А.А. [93]. В настоящее время литературные данные по распространению фасциолёза в данной области весьма разнообразны. По сообщению Душкина В.А. [49] зараженность сельскохозяйственных животных фасциолами в этой области составила 28,1 %. В Ковернинском районе Нижегородской области по данным Досжановой Г.Б. [47] заражено фасциолами 25 % поголовья продуктивного скота. Арисов М.В. [6] при изучении ветеринарной отчетности о распространении трематодозов и по данным гельминтологических вскрытий на мясокомбинатах определил, что почти все

районы Нижегородской области неблагополучны по фасциолёзу. При этом ЭИ колебалась от 5,2-47,0 %, а в отдельных хозяйствах достигала 77,5 %.

В Республике Мордовия Мачинский А.П., Марков И.Ф. [80] сообщали о 30 % зараженности продуктивных животных фасциолами и снижении у коров на 20 % удоев молока. Степанов И.А. [125] сообщал, что молодняк крупного рогатого скота в возрасте 1-2 лет в Мордовии инвазирован фасциолами в 2,3 раза чаще, чем телята до года, а зараженность коров в 2 раза выше, чем молодняка в возрасте 1-2 лет и в 5 раз превышает зараженность телят. ИИ у молодняка до года составила 10 экз./гол., а в возрасте 1,5-2,5 лет – 21,5 экз./гол. По данным автора зараженность крупного рогатого скота в возрасте 3-4 лет снижается, а в возрасте 5-8 лет повышается.

Зараженность крупного рогатого скота фасциолами достигает в Вологодской области 100 % Котельников Г.А., Косухин В.К. [66].

Интенсивность фасциолёзной инвазии у животных также значительно различается. По данным Асадова С.М. [8] ИИ в печени зараженных животных может достигать нескольких тысяч экземпляров фасциол.

В Кировской области Ершов В.С. [52] при убое сельскохозяйственных животных обнаружил 2117 экз. фасциол в печени инвазированного животного.

В Саратовской области 65 % поголовья [128] инвазировано фасциолами. По мнению этих авторов, дикие животные играют большую роль в циркуляции фасциолёзной инвазии крупного рогатого скота. В синантропном биоценозе инвазированность фасциолами европейских лосей составила 17 %, благородных оленей 9 % и зайцев 8 %.

По мнению Горохова В.В., [32] в РФ отмечается тенденция к повышению распространения фасциолёза по причине уменьшения объемов работ по дегельминтизации сельскохозяйственных и диких животных. По данным автора в 1991-1992 гг. было поражено фасциолами 2,1-7,3 % органов (печени) жвачных животных, а в 1996 г. уже зарегистрировали – 9,9-10 %.

Кузьмович Л.Г. [75], Сапунов А.Я., Гаркави Б.Л., Щербаха Ю.И. [110], Памятурене Д.А. [86], Сапунов А.Я. [111], Ромашов В.А., Шелякин И.Д. [104],

Петров Ю.Ф. [94] указывали на распространение фасциолёзной инвазии продуктивного скота, в северных и в южных регионах страны.

На территории Северного Кавказа большинство хозяйств являются не неблагополучными по фасциолёзу, ЭИ крупный рогатый скот в данных хозяйствах достигает 54,7 % [141].

Онуфриенко М.Э. [84] на территории Ленинградской области отмечал 8% зараженность сельскохозяйственных животных фасциолами с нарастанием инвазии трематоды в осенне-зимний сезон.

В южных регионах России продуктивный скот часто инвазирован одновременно различными видами фасциол (*F. hepatica* и *F. gigantica*) [88, 5, 111, 20, 137].

Дурдусов С.Д., Лазарев Г.М. [48] сообщали о распространении фасциолёза крупного рогатого скота в хозяйствах Калмыкии. ЭИ продуктивного скота фасциолёзной инвазией составила 17,8 % при колебании от 15,9 до 20,8 %. В максимальной степени крупный рогатый скот был инвазирован гельминтозом зимой. Авторы отмечают что, с возрастом животных зараженность их повышается и вследствие в фекалиях возрастает количество яиц гельминтов. Максимальная зараженность фасциолами у крупного рогатого скота отмечена в возрасте 6 лет.

По данным Шустровой М.В., Колькова И.В., Доронина М.В. [137] в последние годы отмечается повышение зараженности продуктивного скота фасциолами в Новгородской и Псковской областях. ЭИ фасциолёзной инвазией крупного рогатого скота данных областей достигает 83,5 %, а в некоторых хозяйствах Псковской области до 100 %.

Лошкарева В.В., Архипов И.А. [76] сообщали о высокой зараженности трематодами крупного рогатого скота в Пермском крае. Инвазированность фасциолами составила 19,7 %, парамфистомами 14,1 и дикроцелиями 15,3 % при ИИ, равной соответственно 47,5; 562,4 и 2377,0 экз./гол.

В условиях Среднего Предуралья фасциолёзную инвазию продуктивного скота изучала Лошкарева В.В. [76, 77]. Автором установлена 22,4 % инвазированность сельскохозяйственных животных фасциолами трематоды

F. hepatica в Пермском крае при ИИ равной 31,8 экз./гол. Максимальная зараженность животных в хозяйствах края в январе-феврале. По данным автора маритогония фасциол в организме продуктивных животных проходила с августа по январь и длилась 6 месяцев, первые яйца трематоды обнаружили в фекалиях животных в ноябре.

Гареев К.А., Фазлаев Р.Г. [27] при изучении эпизоотологии фасциолёзной инвазии в условиях Южного Урала отмечали 80 %-ную ЭИ фасциолами крупного рогатого скота. По данным авторов крупный рогатый скот первого года выпаса заражен фасциолёзом на 27,7 %, а после 3-4 пастбищных периодов – на 54,1 %, то есть зараженность продуктивных животных повышалась с их возрастом за счет накопления инвазии.

О широком распространении фасциолёза сельскохозяйственных животных в Республике Мордовия сообщали Васильева В.А. и Небайкина Л.А. [22]. Горохов В.В. и Сорокина Н.П. [33] анализируя данные убоя животных, сообщали о 7,3 % зараженности продуктивного скота фасциолами.

По данным Биттирова А.М., Соттаева М.Х., Шипшева Б.М. [16], Биттирова А.М., Шипшева Б.М., Аккиева М.И. [17], Шипшева Б.М. [138] на территории Кабардино-Балкарии отмечено широкое распространение фасциолёзной инвазии продуктивных животных. ЭИ крупного рогатого скота по данным гельминтоовоскопии составила 48,2 % при обнаружении в 1 г фекалий $47,7 \pm 5,6$ экз. яиц фасциол. По данным гельминтологических вскрытий печени и желчного пузыря инвазированных животных ЭИ составила 52,3 % при ИИ $99,8 \pm 6,2$ экз./гол. Взрослое поголовье крупного рогатого скота заражено фасциолами во все сезоны года ЭИ составила 52,5 % в августе и 76,6 % в феврале. Авторами определена значительная разница в ИИ в разные периоды года и, особенно, соотношение взрослых трематод к не половозрелым фасциолам. По результатам исследований авторов во все сезоны года в организме продуктивных животных, отмечали одновременно преимагинальные формы взрослых фасциол. Зимой и весной в печени и желчном пузыре инвазированных животных преобладали взрослые фасциолы, а летом и осенью молодые трематоды.

На территории Кабардино-Балкарии сельскохозяйственные животные инвазированы двумя видами фасциол: *F. hepatica* и *F. gigantica* с преобладанием первого вида – 78,3 %. По данным авторов в орошаемой зоне повышается распространение *F. gigantica* с 6,4 % до 30,3 %. Первые яйца фасциол в фекалиях у молодняка крупного рогатого скота первого года выпаса обнаруживают в июле с последующим повышением ЭИ. Зараженность крупного рогатого скота, первого года выпаса, фасциолёзом в хозяйствах республики составляет 22,7 %. В условиях Кабардино-Балкарии развитие яиц *F. hepatica* и *F. gigantica* наступает со второй половины марта до середины ноября. В зимние месяцы яйца фасциол, на открытых площадках, погибают, а в воде сохраняют жизнеспособность до 38,1 %. Максимальное количество моллюсков *L. auricularia* и *L. truncatula* и их инвазированность личинками фасциол от 3,8 до 9,5 %, установлена в летне-осенний период. На территории Кабардино-Балкарии наибольшая плотность популяции *L. truncatula* установлена в горной и предгорной зонах, а *L. auricularia* в орошаемой зоне. Авторы отмечают, что адолескарии фасциол сохраняют жизнеспособность в сене в течение зимнего периода, и небольшая часть может сохраниться на растениях в биотопах на пастбище. Адолескарии фасциол инцистированные на растениях теряют инвазионность в течение 4 суток от воздействия прямых солнечных лучей.

Черкесов С.Б., Ошхунов А.К. [133] сообщали о том, что в Кабардино-Балкарии инвазированность фасциолами яков в осенне-зимний период составляет в среднем 28,4-40,4 %. ЭИ яков старших возрастных групп составила 77,9-94,8 %. Авторы не установили у животных существенной разницы в возрастных показателях в различные сезоны года.

По данным Рехвиашвили Э.И. [103] в условиях Северного и Центрального Кавказа ЭИ гельминтозом крупного рогатого скота в хозяйствах составила 52,2 % при ИИ $52,3 \pm 4,5$ экз./гол. Максимальная зараженность продуктивных животных отмечена в январе – 70,7 % у взрослого поголовья. Первые единичные экземпляры яиц фасциол в фекалиях молодняка крупного рогатого скота авторы обнаружили в

июле. Широкое распространение фасциолёзной инвазии обусловлено высокой репродуктивной способностью фасциол и, особенно, в летний период.

Фасциолёз часто протекает в форме смешанной инвазии. Еремеева О.Р. и др. [50] проводя исследования, установили, что при смешанной инвазии в пищеварительном тракте продуктивных животных развивается дисбактериоз, а в печени формируется паразитоценоз, причинами которого являются трематоды и бактерии.

Межвидовые отношения фасциолёзной инвазии и дикроцелий на стадии мариты впервые изучены Потафеевым Н.Е. [99] в печени кроликов. Автор установил, что между трематодами частично проявляются антагонистические отношения, дикроцелии оказывают влияние на размеры фасциол и наоборот.

В данном направлении так же была проведена работа Кожабаевым М.К. [63], автор экспериментально изучил межвидовые отношения *F. gigantica* и *Orientobilharzia turkestanica* на разных стадиях онтогенеза паразитов. Автором отмечено существование конкурентных взаимоотношений между популяциями видов *F. gigantica* и *O. turkestanica* на всех стадиях развития.

Коляда Е.Е., и др. [64], Коляда Е.Е. [65] отмечали 17,4 % зараженность сельскохозяйственных животных фасциолами в Среднем Поволжье при ИИ 37,4 экз./гол. По данным авторов взрослое поголовье крупного рогатого скота было заражено фасциолами во все сезоны года с колебаниями от 44,6 % в июле до 60 % в январе. Авторами установлена разница в возрастном составе фасциол и дикроцелий в организме крупного рогатого скота в разное время года. В течение всего года, кроме весны и лета, в печени и желчном пузыре телят обнаружены трематоды в пре- и имагинальной стадии. Количество взрослых фасциол и дикроцелий в печени повышается постепенно с осени до весны следующего года. Впервые единичные экземпляры яиц фасциол и дикроцелий авторы обнаружили в фекалиях телят в октябре. Максимальная зараженность телят отмечается зимой, а заражение происходит преимущественно во второй половине пастбищного сезона. При одновременном паразитировании фасциол и дикроцелий в печени крупного рогатого скота установлено уменьшение длины тела фасциол на 20,5 %,

ширины на 16,4% и дикроцелий соответственно на 12,5 % и 11,8 %, что указывает на частичные антагонистические отношения этих видов трематод, особенно при высокой ИИ. При смешанной инвазии у крупного рогатого скота, вызванной фасциолами и дикроцелиями, замедляется процесс маритогонии дикроцелий и фасциол по сравнению с моноинвазией. Маритогония дикроцелий и фасциол в печени крупного рогатого скота завершалась при моноинвазии в декабре и феврале, а при смешанной инвазии – в январе и марте. Яйце продукция *F. hepatica* и *Dicrocoelium lanceatum* в организме продуктивного скота составила при моноинвазии $5867,5 \pm 417,2$ и $287,5 \pm 25,6$ экз. яиц/сутки соответственно. При смешанной инвазии яйце продукция фасциол снижается: на 5,4 %, а дикроцелий – 3,5 %.

В своих работах Петров Ю.Ф. и др. [96] пишут, что количество зараженного крупного рогатого скота фасциолёзной инвазией увеличилось в 1,6 раза в период рыночной экономики. Причиной увеличения количества зараженного скота в это период послужило прекращение государственного финансирования, несоблюдение противопаразитарных мероприятий, не проведения мелиорации, и внесения моллюскоцидов в биотопы пастбищ, применение недостаточно эффективного препарата при трематодозах – альбендазола. Петров Ю.Ф., Абдуллаев Х.С., Кузнецов В.М. и др. [97] указывали, что в РФ в период 1991-2006 гг. увеличилось количество зараженных фасциолами продуктивных животных. Так на территории Ивановской области фасциолёзной инвазией поражено 52,4 % сельскохозяйственных животных, по результатам гельминтологических вскрытий печени и желчного пузыря, зараженного крупного рогатого скота ИИ составила 54,6 экз./гол. В данной области промежуточным хозяином трематоды *F. hepatica* являются моллюски *L. truncatula*.

По данным авторов в Чеченской Республике зараженность фасциолами продуктивных животных составила: овец 33,2 % при ИИ 8-59 экз.; коз 8,1 % при ИИ 3-11 экз.; крупного рогатого скота 19,2 % при ИИ 12-108 экз.; буйволов 13,4 % при ИИ 5-42 экз., а также лошадей 4,8 % при ИИ 3-7 экз. и диких животных зайцев 5,7 % при ИИ 2-3 экз., косуль 0,9 % при ИИ 3 экз. Так же, у выше

перечисленных животных регистрируют и трематоду *F. gigantea* [129]. Хуклаев М.Г. [130] изучал фасциолёз животных в равнинном и предгорном поясах республики. По данным автора *F. gigantea* доминирует в равнинном поясе, а *F. hepatica* в горах. Зараженность фасциолами продуктивных животных составила: крупный рогатый скот 28 % при ИИ 14-117 экз.; овцы 34,8 % при ИИ 9-243 экз.; козы 26,6 % при ИИ 5-24 экз.; буйволы 23,3 % при ИИ 21-84 экз. Инвазирование животных в равнинном и предгорном поясах происходит в апреле-октябре, в горной – в сентябре. Впервые заражаются фасциолами в июне молодняк крупного рогатого скота, в мае – ягнята. Промежуточные хозяева фасциолёза на территории Дагестана для трематоды: *F. hepatica* – моллюски *L. truncatula*, *Galba oblonga* (*L. truncatula* не встречаются в равнинной зоне); *F. gigantea* – *L. auricularia*, *L. euphratica*, *L. peregra* [12].

Ахмедрабаданов Х.А., Атаев А.М. и др. [12] изучали приживаемость адолескариев фасциол *F. gigantea* у крупного рогатого скота и буйволов. Авторы отмечают, что при экспериментальном заражении животных в возрасте 5 мес. дозой 500 адолескариев острая форма фасциолёза проявилась на 46 и 64-е сутки после заражения. Приживаемость у телят составила от 56,6 до 62,5 %, у буйволят в 3 раза меньше от 19,5 до 26,5 % и острая форма фасциолёза не отмечалась.

В условиях Алтая максимальная инвазированность крупного рогатого скота фасциолами отмечена в Майминском, Турочакском и Чойском районах, фасциолёз установлен в 8 из 10 районов при ЭИ от 0,42 до 94,1 %. [79].

В условиях Воронежского заповедника трематодофауну диких видов животных – естественных хозяев трематоды изучали Шелякин И.Д., Кузьмичева В.Н. [136]. Авторы обнаружили 4 видами гельминтов у диких копытных, обитающих в заповеднике.

Пятнистые и благородные олени заражены *F. hepatica*, *D. lanceatum*, *Parafasciolopsis fasciolaemorpha* и *P. cervi*, из которых превалируют дикроцелии. Парафасциолопсис и фасциолёз встречаются относительно реже. ИИ парафасциолопсисами у пятнистого оленя достигает 1475 экз., у благородного оленя – 1778 экз. Парамфистомоз отмечается у 27% оленей с ИИ до 767 экз. Лоси

и косули являются дефинитивными хозяевами фасциол, дикроцелий и парафасциолопсисов. Последние преобладают у лося ЭИ которых достигает 100 %, ИИ до 9983 экз. Зубры заражены дикроцелиями и фасциолами. Кабаны инвазированы дикроцелиями – ЭИ – 70 %, ИИ – 265 экз. и реже фасциолами ЭИ – 5 %, ИИ – 7 экз. Фасциолёз заражены 20-30 % продуктивного скота и 25-37 % овец при ИИ – 75-125 экз. Зараженность малого прудовика *L. truncatula* личиночными стадиями фасциол колеблется от 0,8 до 3,5 % при максимальной плотности моллюска 45-87 экз./м² биотопа, а интенсивность заражения спороцистами составила 1-45 экз., редиями 1-5, церкариями 75-131 экз.

В Вологодской области фасциолёзную инвазию изучали Кряжев А.Л., Бирюков С.А., Лемехов П.А. [72], по данным авторов зараженность крупного рогатого скота фасциолёзом составила 30,4-52,0 %. Первые яйца фасциол у инвазированных животных они обнаружили после 15 октября, подъем инвазии отмечали в феврале. ЭИ с возрастом животных повышалась и у животных старше 5 лет составила 40 %. В отдельных хозяйствах области зараженность гельминтозом продуктивных животных достигает 56 %.

Фасциолёз, распространён и в странах СНГ и ближнего зарубежья [51, 92, 1, 102, 85].

По данным Скрябина К.И. [117], Боева С.Н. [19], Иргашева И.Х. [57], Касымбекова Б.К. [62] возбудитель *F. hepatica* встречается в Казахстане, Таджикистане, Узбекистане, Туркменистане, Киргизии и в других регионах.

По данным Касымбекова Б.К. [62], Шакирова А.Б. [134] крупный рогатый скот часто заражается трематодой *F. hepatica* и имеет большую степень инвазированности. Многие исследователи сообщают, что инвазированность крупного рогатого скота фасциолами, может достигать от 18 до 50 % и более.

Якубовский М.В., Шурова Н.Ю., Мяцова Т.Я. [140] сообщили о 18,2 % инвазированности фасциолами крупного рогатого скота в Белоруссии, в том числе коров – 47,7 %. Потери при хроническом фасциолёзе прироста массы тела у животных достигают 8,17-12,75 %, снижение по удою молока – до 50 %. Количество выбракованной печени животных при убое составляет 11,68-22,92 %.

По данным Кармалиева Р.С. [60] в условиях Запада Казахстана фасциолёз крупного и мелкого рогатого скота является весьма распространенным заболеванием, который вызывается двумя видами: фасциолой обыкновенной и фасциолой гигантской. При исследовании печени у 1675 голов крупного рогатого скота установлено, что наибольшая инвазированность отмечалась в декабре, наименьшая – в марте.

Баягин В.Н. [15] также отмечает, что фасциолёз мелкого и крупного рогатого скота широко распространен в Узбекистане и наносит большой ущерб, особенно ощутимый в Хорезмской области. Возбудителем фасциолёза здесь является *F. gigantea*.

В Узбекистане крупный рогатый скот, по мнению Азимова Ш.А. и Салимова Б.С. [3] является основным источником распространения фасциолёзной инвазии.

Согласно сообщениям Алиева М.С. [5], за 1976-1978 гг. пораженность крупного рогатого скота фасциолами в отдельных хозяйствах Азербайджана достигала 82,5-100 %. Основной причиной широкого распространения фасциолёза явилось осуществление крупных ирригационных и мелиоративных мероприятий, что отразилось на увеличении численности пресноводных моллюсков, являющихся промежуточными хозяевами фасциол.

В Азербайджане в частных подсобных хозяйствах жвачные в большей мере заражены фасциолами, чем на фермах. В частном секторе ЭИ скота составляет в среднем 62,3 %, а в общественных стадах – 43,1 % [26].

На территории Молдавии наиболее высокая экстенсивность и интенсивность фасциолёзной инвазии крупного рогатого скота наблюдается в индивидуальном секторе [51]. Фасциолами инвазировано 10,6-59,5 % взрослых животных, 1,2-47,7 % бычков. На Кишиневском мясокомбинате в 1981-1984 годах выбраковывано от 32,9-36,2 % пораженной фасциолами печени.

Азимов Ш.А. с соавт. [4] изучили распространение фасциолёза в Ташкентской, Сырдарьинской и Джизакской областях. Исследование проводили методом гельминтологических вскрытий печени животных в разных районах 3-х

областей. Максимальную ИИ фасциол выявили у крупного рогатого скота Сырдарьинской области – 190 экз., в Джизакской области – 197 экз., у овец – 8 экз.

Согласно ветеринарной отчетности по Армении, фасциолёз выявлен у 10 % крупного рогатого скота. Высокая плотность популяции малых прудовиков отмечена в мае-июне. Наличие партеногенетических стадий *F. hepatica* у моллюсков выявлено весной – 0,2-0,3 %, летом – 0,5-2 %, осенью – 2-5,1 % [81].

В ряде регионов России в 2009 – 2017 гг. по данным Горохова В.В. с соавт. [35], Горохова В.В. и Пузанова Е.В. [38] ухудшилась эпизоотическая ситуация по фасциолёзу, сельскохозяйственных и диких животных, выявлено большое количество зараженных моллюсков малого прудовика ЭИ которых личиночными стадиями гельминтоза составила 10 % (обычно 1 %).

Анализ данных литературы показывает, что фасциолёзная инвазия является достаточно распространенной на территории Европейской части Российской Федерации и требует постоянного мониторинга, учитывая экономические последствия. В последние годы, в силу целого ряда причин, в сельском хозяйстве происходят экономические и хозяйственные изменения, которые оказали, в том числе, существенное влияние на распространение фасциолёза сельскохозяйственных животных. Исходя из вышесказанного, представляет значительный интерес изучение циркуляции фасциолёзной инвазии и выяснение различных факторов, влияющих на зараженность сельскохозяйственных и диких животных *F. hepatica* в Центральном регионе России.

2.3. Фасциолёз в условиях Центрального региона России

Фасциолёз сельскохозяйственных животных в Центральном регионе Российской Федерации характеризуется следующими данными.

В Ивановской области по данным Абдулаева Х.С. [2] высокий уровень зараженности фасциолами животных в ноябре-декабре 88-92 % из числа исследованных. ИИ у крупного рогатого скота достигает от 1 до 380 экз./гол.

В Смоленской области по данным авторов Панасюка Д. И. и Фетисова В.И. экстенсинвазированность крупного рогатого скота фасциолёзной инвазией равна 45,3 % [87]. А в 2010 году проводя мониторинг эпизоотической ситуации по фасциолёзу так же в Смоленской области, Кротенков В.П. с соавт. [70] отметили, что в организме молодняка продуктивных животных период маритогонии фасциол проходит в течение 5 месяцев. В летние и осенне-зимние месяцы более 35 % фасциол выявляются у животных неполовозрелыми. В ноябре, в организме зараженных животных, в печени 35 % фасциол были половозрелыми, а в декабре количество половозрелых трематод достигло 86 %. Во второй декаде января все фасциолы в печени инвазированного скота стали половозрелыми. Авторы, все районы и области разделили на 3 зоны: 12 районов – зона постоянного риска – ЭИ у животных 11-45,0 %; 4 района зона умеренного риска – ЭИ 5-9,9 % и 9 районов с зоной наименьшего риска – ЭИ 0,9-5 %.

Шелякин И.Д. [135] пишет, что с возрастом зараженность крупного рогатого скота фасциолами повышается, автор отмечает, что экстенсинвазированность крупного рогатого скота в возрасте 1-2 года, 3-4 года, 5-6 лет, 7-8 лет и старше равна 12 %, 20 %, 48 %, 60 % и больше 60 %.

В Костромской области 53,7 % крупного рогатого скота поражено фасциолами [73].

В Воронежской области фасциолёзной инвазией поражено 20-30 % крупного рогатого скота [104].

Фасциолами инвазировано 11,2 % поголовья крупного рогатого скота в Вологодской области, 9,6 % – в Ярославской, 7,9 % – в Брянской и 6,9 % – в Орловской областях [69, 122]. Зараженность крупного рогатого скота фасциолами в Московской области составила в 1999 г. 2,2 %, а в 2000 г. – 8,5 % [119]. Сорокина Н.П. [122] так же регистрировала фасциолёз крупного рогатого скота в Наро-Фоминском и Истринском районах Московской области. ЭИ животных фасциолами колебалась в пределах от 5,8 до 23,2 %.

Кошеваров Н.И. [69] в Нечерноземье РФ регистрировал фасциолёз у крупного рогатого скота в 18,7 % случаев со средней интенсивностью инвазии

23±2,6 экземпляров трематод на голову и отмечал, что наибольший процент поражения приходится на взрослое поголовье.

Экстенсивность заражения взрослого поголовья крупного рогатого скота фасциолами, по результатам исследования Петрова Ю.Ф. и Курочкиной М.В. [95] составила 100 % на территории Ивановской, Ярославской и Костромской областях. При этом интенсивность инвазии составила от 36,8 до 62,2 экз./голову.

Сафиуллин Р.Т. сообщил, что в период с 2004 по 2008 год по данным копроовоскопическим исследований на территории РФ фасциолёз регистрируется у крупного рогатого скота в 6,1 % случаях, а по данным ветеринарно-санитарной экспертизе 5,58 % случаях. В Калужской области автор регистрировал фасциолёз у крупного рогатого скота: 9,1 % по результатам копроовоскопии; 13,2 % по данным ветеринарно-санитарной экспертизе.

Исследуя естественных хозяев фасциолёза в дикой природе, на территории Брянской области Пельгунов А.Н. [90] обнаружил у косули шесть трематод *F. hepatica*.

Таким образом, возбудитель фасциолёзной инвазии регулярно выявляется у сельскохозяйственных и диких животных на территории Центрального региона России. По результатам ветеринарно-санитарной экспертизе туш животных, фасциолёз регистрируют в 0,64-37,5 % случаях.

2.4. Моллюски – промежуточные хозяева возбудителя *Fasciola hepatica*

В последние годы, даже на фоне увеличивающегося общего потока информации по биологическим дисциплинам, наблюдается заметное усиление интереса к изучению континентальных моллюсков, как в нашей стране, так и за рубежом. Это связано с целым рядом обстоятельств как практической, так и теоретической направленности.

В отечественной и зарубежной литературе можно найти множество работ прямо или косвенно рассматривающих вопросы биологии фасциолёза. Значительное место среди них занимает экспериментальное изучение роли моллюсков в распространении фасциолёза. В результате таких исследований

были созданы теоретические основы биологии фасциолеза и его профилактики [9, 71].

Хорошо известно, что каждый вид в природе занимает собственную экологическую нишу, часто отличаясь местом обитания, устойчивостью к определенным абиотическим факторам окружающей среды.

Расширение ареала любого вида организмов происходит за счёт стремления занять смежные, пригодные для обитания территории за счёт «пассивных» миграций. «Пассивные» миграции могут осуществляться посредством переноса реками и ручьями, с помощью других видов животных и птиц. Распространения моллюсков рода *Lymnaea* – голарктическое. Моллюски встречаются почти повсеместно – всюду, где есть подходящие для обитания пресноводные водоёмы. К их числу относятся: бассейн Балтийского моря, Черного моря (бассейн Днепра, Дона), Каспийского моря (бассейн Волги), Ледовитого океана (бассейн Северной Двины, Оби, Енисея, Лены), Средняя Азия, Закавказье, Северный Кавказ, Крым [56, 123, 59, 124, 71].

Прудовики обитают в самых разнообразных водоемах. Подавляющее большинство их заселяет зону прибрежной растительности у постоянных водоемов. Отдельные виды прудовиков приспособились к жизни в зоне подвижной воды в крупных озерах, обитая на камнях, обросших водорослями, а также в прибрежной зоне.

Большую группу составляют обитатели временных водоемов. В свою очередь временные водоемы делятся на 3 группы: полупостоянные (пересыхающие меньше чем на 1 месяц), пересыхающие (пересыхающие на 1-3 месяца), эфемерные (пересыхающие больше чем на 3 месяца) и пересыхающие водоемы сухой степи и полупустынь (табл. 1).

Таблица 1. – Место обитания некоторых видов моллюсков (прудовиков) (по Круглову Н.Д. 2005)

Вид моллюска	Место обитания					
	Прибрежная зона	Зона подвижной воды	Временные водоемы (пересыхающие на)			Водоемы сухой степи и полупустынь
			Меньше 1 мес.	1-3 мес.	Больше 3 мес.	
<i>L. stagnalis</i>	+					
<i>L. fragilis</i>	+					
<i>L. doriana</i>	+					
<i>L. fontinalis</i>	+					
<i>L. patula</i>	+					
<i>L. monnardi</i>	+					
<i>L. hartmanni</i>	+					
<i>L. corvus</i>	+					
<i>L. curtacorvus</i>	+					
<i>L. atra</i>	+					
<i>L. media</i>		+				
<i>L. bodanica</i>		+				
и другие виды подрода <i>Radix</i> , <i>Peregriana</i> .		+				
<i>L. ulaganica</i>			+			
<i>L. palustris</i>			+			
<i>L. glabra</i>			+			
<i>L. gundriseri</i>			+			
<i>L. peregra</i>				+		
<i>L. blauneri</i>				+		
<i>L. lagotis</i>				+		
<i>L. bakowskiana</i>				+		
<i>L. turricula</i>				+		
<i>L. berlani</i>				+		
<i>L. liogyra</i>				+		
<i>L. likharevi</i>				+		
<i>L. truncatula</i>					+	
<i>L. subangulata</i>					+	
<i>L. tengriana</i>					+	
<i>L. goupili</i>					+	
<i>L. sibirica</i> ,					+	
<i>L. lenaensis</i>					+	
<i>L. hookeri</i>					+	
<i>L. ollula</i>					+	
<i>L. viridis</i>					+	
Подрод <i>Corvusiana</i>						
<i>L. kazakensis</i>						+

Важным фактором, обуславливающим многие биологические процессы инвазии моллюсков в местах обитания, является гидрохимический режим водоемов. Как известно, поддержание определенного количества воды в теле моллюска при ее избытке в окружающей среде целиком зависит от солевого баланса воды. Поэтому для поддержания своего солевого баланса моллюски поселяются в водоемы с оптимальным для данного вида значением гидрохимического режима. Среди факторов, регулирующих расселение моллюсков, можно выделить активную реакцию среды (pH), ионы кальция, магния, хлора, растворенный в воде кислород, сероводород, уголекислоту. Раковина моллюска состоит главным образом из монокарбонатов кальция, поэтому уголекислота, образуя бикарбонаты, способствует растворению раковины. Соединения кальция в воде оказывает сильное влияние на дыхание, скорость роста и половое созревание моллюска. Концентрация ионов кальция меньше 4 мг/л с трудом обеспечивает баланс кальция в организме моллюска, недостаток компенсируется за счет пищи, в противном случае молодые особи не могут создавать минеральную основу раковины. Дальнейшее снижение содержания ионов кальция приводит к отрицательному балансу в организме и гибели моллюска. Ионы магния играют важную роль в физиологических процессах, и прежде всего с ними связывают прочность раковины. На место обитания моллюсков существенное влияние оказывает активная реакция среды (pH). В большинстве водоемов с богатой фауной моллюсков она составляет 6-8 единиц. Снижение этого значения до 4-5 единиц нарушает нормальную жизнедеятельность моллюсков, и в таких водоемах они полностью отсутствуют.

Оптимальная температура для термофильных видов, при которой наблюдаются нормальные физиологические процессы в организме моллюска, находятся в пределах 27-28 °С. Для обитателей же временных водоемов этот температурный показатель находится в пределах 19-20 °С [71, 23].

Таким образом, место обитания моллюсков напрямую связано с гидрохимическим режимом водоемов, в значительной степени определяя интенсивность физиологических процессов в организме моллюсков.

Жизненный цикл – это период между одинаковыми фазами развития двух или большего количества последовательных поколений [71, 23].

У прудовиков простой жизненный цикл и все последовательные поколения не отличаются друг от друга.

Большинство видов рода *Lymnaea* – самооплодотворяющиеся виды моллюсков (гермафродиты). Весной, как только температура поднимается до 8-10°C, происходит размножение прудовиков.

Обычно моллюск делает 1 кладку в день, реже две. Как правило, практически все яйца являются оплодотворенными. Яйцекладка происходит на влажной грязи, или границе ее с водой, при сухих атмосферных условиях яйца бывают погружены в воду.

Обычно каждое яйцо содержит 1 эмбрион, но иногда и 2. Среднее количество яиц в яйцекладке – 14 экземпляров, иногда до 20-25, самое большое – до 31 яйца [118].

Темпы эмбрионального развития моллюсков зависят от температуры окружающей среды, оптимальное значение которой для большинства прудовиков находится в пределах 15-25 °С. Эмбриогенез при 10-11 °С продолжается 29-32 дня, при 21-30 °С – 11-12 дней [71, 154, 53].

Как правило, эмбриональное развитие в яйце идет неравномерно даже в одной «синкапсуле». В отдельных случаях отставание в развитии может происходить 5-10 суток. Благодаря такой особенности роста и развития, вышедшие из одной «синкапсулы» моллюски, оказываются на разных стадиях полового созревания, что очень важно для размножения гермафродитов.

Вскоре после вылупления юные моллюски покидают яйцевую массу и начинают усиленно питаться, с этого времени в благоприятных условиях они растут чрезвычайно быстро, на 21-23 день достигают величину 0,48-0,5 см [71,23].

Половое созревание у них наступает в среднем через 55-63 дня. Внешние условия оказывают активное влияние на половое созревание. Известно, что рост и половое созревание моллюска зависит от концентрации ионов кальция в воде. Во время интенсивного оогенеза начинается мобилизация резерва кальция из

раковины, а в период откладки яиц этот процесс достигает своего максимума. Количество пищи, температурный режим, продолжительность фотопериода также оказывает серьезное влияние на половое созревание и половую активность моллюсков. Оптимальный фотопериод, при котором наблюдается повышенная половая активность моллюсков, 12-16 часов [71].

Характер питания прудовиков зависит от размеров, возраста и вида моллюсков. В молодом возрасте моллюски многих видов питаются бактериями, диатомовыми водорослями, детритом. Отдельные виды (например, представители подрода *Galba*) питаются этой пищей всю жизнь. Взрослые моллюски переходят на питание макрофитами (особенно их отмирающими частями). Макрофиты – крупные многоклеточные водоросли (зеленые, бурые, красные) обитающие во всех широтах прибрежной зоны, где часто образуют густые заросли. Наиболее интенсивное потребление пищи наблюдается у моллюсков в период полового созревания и откладки яиц. Осенью, несмотря на прекращение размножения, наблюдается интенсивное потребление пищи и накопление питательных веществ, которые необходимы моллюскам при длительном зимнем голодании. Рацион взрослых прудовиков очень разнообразен. Моллюски, обитающие в прибрежной зоне крупных водоемов, а также на погруженной растительности, в большом количестве поедают отмершие листья роголистника, кувшинок. В марте и до конца июля в пище преобладают водоросли (до 80 %). В августе-октябре основная пища представлена мацерированными листьями водных макрофитов.

Обитатели полупостоянных и пересыхающих водоемов в основном питаются детритом, бактериями, диатомовыми водорослями и мацерированными листьями макрофитов. В водоемах, грунт которых содержит большое количество гумуса, развивается множество простейших, бактерий, составляющих основную пищу таких видов моллюсков, как *L. truncatula*, *L. fusca*.

У прудовиков отмечен так же и каннибализм. Ослабленные, малоподвижные моллюски могут поедаться здоровыми. Характер пищи, таким образом, в значительной степени определяет особенность физиологии моллюсков.

Считают, что моллюски семейства *Lymnaeidae* по показателю

продолжительности жизни в основном являются однолетними. Но при оптимальных условиях внешней среды живут от 12,5 до 21 месяца и более.

Моллюски семейства прудовиков имеют важное паразитологическое значение, так как большинство из них являются промежуточными хозяевами ряда видов гельминтов, которых насчитывает свыше 4000 видов [59, 124, 71].

Утвердилось мнение, что облигатным промежуточным хозяином фасциолы обыкновенной в Европе, Северной Африке и Азии является только один вид – *L. truncatula*. Позднее по мере изучения стало понятно, что развитие фасциолы обыкновенной (в естественных условиях) может завершаться у представителей 12 видов прудовиков (табл. 2), входящих в подрод амфибияльных [71].

Таблица 2. – Особенности восприимчивости моллюсков к заражению личинками *Fasciola hepatica* в эксперименте (по Круглову Н.Д. 2005)

Виды моллюсков	Развитие фасциол в моллюсках (стадия)	Завершение партеногонии (%)	Продолжительность партеногонии (сут.)
п/р Galba			
<i>L. truncatula</i>	срца	75-85	30-46
<i>L. subangulata</i>	срца	70-75	30-46
<i>L. oblonga</i>	срца	60-65	35-46
п/р Lymnaea s.str.			
<i>L. stagnalis</i>	ср	-	-
п/р Corvusiana			
<i>L. corvus</i>	срца	3-10	113
<i>L. gueretiniana</i>	срц	-	-
п/р Stagnicola			
<i>L. atra atra</i>	срца	2-11	69
<i>L. p.palustris</i>	срца	2-8	93
п/р Peregriana			
<i>L. peregra</i>	срца	21	115
<i>L. balthica</i>	срца	12-35	80
<i>L. ampullacea</i>	срца	4-33	80
<i>L. lagotis</i>	срца	17-20	105
<i>L. fontinalis</i>	ср	-	-
Примечание: Обозначения: с – спороциста, р – редия, ц – церкария, а – адолескарий.			

Три вида моллюсков, из подрода *Galba*: *L. truncatula*, *L. subangulata*, *L. oblonga* хорошо заражаются мирацидиями фасциолы обыкновенной *F. hepatica* в лабораторных условиях, партеногения завершается через 30-40 суток. Виды *L. truncatula*, *L. subangulata* заселяют пересыхающие водоемы, хорошо доступные для травоядных животных. Однако возможная роль этих видов в распространении фасциолёза далеко не равноценно (табл. 2). Оно определяется не только особенностями экологии, но и распространением этих видов в Европе и Северной Азии.

Анализируя таблицу 2, видим, что малый прудовик (род *Lymnaea*, подрод *Galba*, вид *Lymnaea truncatula*) является основным «облигатным» промежуточным хозяином *F. hepatica*, так как имеет наибольший в процентном соотношении показатель завершения партеногонии (75-85 %). Наименьший по времени процесс партеногонии у промежуточного хозяина трематоды 30-46 суток. Остальные виды моллюсков заражаются мирацидиями *F. hepatica*, но имеют продолжительный по времени период и низкий процент в партеногонии этого вида.

У малого прудовика *L. truncatula* раковина высококоническая с завитком, составляющим 0,56-0,58 высоты раковины и последним оборотом, достигающим 0,69-0,70 высоты раковины. Устье яйцевидное, его высота около 0,48 высоты раковины. Основной индекс раковины равен 1,93. Высота раковины 6,6 мм, ширина 3,5 мм, количество завитков 5. Обращает на себя внимание то, что малый прудовик (*L. truncatula*) распространен почти повсеместно – всюду, где есть подходящие для его обитания пресноводные водоемы.

В России, в том числе в Центральном регионе, наличие малого прудовика зарегистрировано во всех неблагополучных по фасциолёзу областях.

В зарубежных странах в качестве промежуточного хозяина возбудителя фасциолы выступают моллюски других подродов и видов (табл. 3).

Наилучшие места обитания малого прудовика (*L. truncatula*) – мелководные кратковременные лужи, обводнительные и осушительные каналы, лужи в пойме рек, придорожные каналы, «мочажины» (водоемы различной площади, глубиной от 5-40 см с вязким, илистым дном), карьеры, ямы, где рН воды находится в

Таблица 3. – Видовой состав моллюсков промежуточных хозяев *F. hepatica* в зарубежных странах (по Круглову Н.Д.2005)

Виды моллюсков	Районы России, СНГ	Страны мира
<i>Под Lymnaea</i>		
1. Подрод <i>Galba</i> <i>L. truncatula</i>	Европейская часть, Зап. Сибирь, Вост. Сибирь до Байкала, Казахстан, Средняя Азия, Кавказ	Западная Европа
<i>L. subangulata</i>	Европейская часть, Средняя Азия	Западная Европа
2. Подрод <i>Orientogalba</i>		
<i>L. ollula</i>	Приморский край, о. Сахалин	Филиппины, Япония Гавайские острова
<i>L. viridis</i>		
<i>L. umlaasiana</i>	-	Сев. Африка, Эфиопия, Кения
<i>L. mweruensis</i>	-	Сев. Африка, Эфиопия, Кения
<i>L. tenella</i>	-	Новая Зеландия
3. Подрод <i>Sibirigalba</i>		
<i>L. sibirica</i>	Амурская обл., Хабаровский край	-
<i>L. rotanini</i>	-	Китай
4. Подрод <i>Walterigalba</i>		
<i>L. ferruginea</i>	-	Канада, США
5. Подрод <i>Pseudogalba</i>		
<i>L. humilis</i>	-	Канада, Сев. Америка
<i>L. modicella</i>	-	США, Канада
<i>L. cubensis</i>	-	США, Чили, Мексика, Венесуэла
<i>L. obrussa</i>	-	Мексика
6. Подрод <i>Sphaerogalba</i>		
<i>L. bulimoides</i>	-	Сев. Америка
<i>L. techella</i>	-	США
<i>L. viator</i>	-	Аргентина, Чили, Перу
7. Подрод <i>Stagnicola</i>		
<i>L. attenuata</i>	-	Мексика
<i>L. vulnerata</i>	-	Польша
8. Подрод <i>Polyrhutis</i>		
<i>L. rubella</i>	-	Гавайские острова
<i>L. proxima</i>	-	Сев. Америка
<i>L. traskii</i>	-	Канада
9. Подрод <i>Pseudosuccinea</i>		
<i>L. cousin</i>	-	Колумбия
<i>L. columella</i>	-	США
10. Подрод <i>Austropelea</i>		
<i>L. tomentosa</i>	-	Австралия, Нов. Зеландия
<i>L. lesson</i>	-	Австралия
<i>L. tasmanica</i>	-	Южная Австралия
11. Подрод <i>Bullastra</i>		
<i>L. cumingiana</i>	-	Филиппины
12. Подрод <i>Pectinides</i>		
<i>L. diaphana</i>	-	Перу

пределах 6,9-7,8. Вместе с тем, расселение малого прудовика по различным типам водоемов далеко не одинаково [123, 59, 23].

Наиболее излюбленными местами обитания моллюсков семейства *Lymnaeidae* являются различные по своей величине, местоположению, характеру почвы и растительности мелководные, чаще временные, хорошо прогреваемые водоемы типа «мочажин», луж, мелких болотцев, неглубоких канав на пастбищах, вдавления от копыт животных, а также и заиленные берега медленно текущих мелких ручьев, речек, реже – прудов и озер [123, 59, 23].

Плотность населения малого прудовика варьирует в очень широких пределах в зависимости от многих условий: сезона года, характера места обитания, влажности, температуры. В среднем в мочажинах плотность составляет 38 моллюсков/м² площади.

2.5. Моделирование естественных условий обитания малого прудовика (биотопов) в условиях лаборатории

Учитывая ведущую роль моллюсков в распространении инвазий гельминтов, их значение как промежуточных хозяев, и одновременно весьма ограниченные по времени сроки для их изучения в природных условиях, были предприняты исследования по культивированию моллюсков в лабораторных условиях.

Исследователями была отмечена сложность и трудоемкость таких работ, связанная как с недостатком аналитических данных по вопросам размножения, развития, кормления и содержания моллюсков в условиях лаборатории, так и с большими трудностями экспериментальной работы из-за сложности требуемой аппаратуры, дефицита питательных сред, создания особых климатических условий. Так же, как и разработка методики, моделирования естественных условий обитания малого прудовика (биотопов) в условиях лаборатории, затруднена слабой изученностью биологии и экологии этого моллюска.

Имеется значительное количество сообщений, в которых исследователи

рекомендуют различные методы содержания пресноводных моллюсков в условиях лаборатории.

Жадин В.И. и Панкратова В.Я. [53] при изучении биологии прудовика *L. truncatula* содержали моллюсков в небольших стеклянных сосудах, на дно которых укладывали мацерированные в воде листья ивы или почву с листьями деревьев, взятыми из болота. В каждый сосуд объемом 1,5-3 л помещалось от 11 до 120 моллюсков. Однако при повышении плотности популяции беспозвоночных наблюдали значительную гибель прудовиков.

Невоструева Л.С. [82] содержала моллюсков в кюветах и аквариумах, в которые вносились песок и водное растение элодея (*Eloдея canadensis*). Слой воды в аквариумах с моллюсками не превышал 2-3 см для вида *L. truncatula*. Смена воды и песка в аквариумах производилась по мере их загрязнения.

Волкова З.В. [25] в целях получения молоди размещала моллюсков различных видов в аквариумах, чашках Коха, простоквашницах, в которые за 1-2 дня до помещения моллюсков наливалась водопроводная вода. По мере испарения вода добавлялась до первоначального уровня, а по мере загрязнения экскрементами моллюсков заменялась. Полученные в таких условиях кладки моллюсков автор мягкой кисточкой переносила в бактериологические чашки со свежей водой. По мере выплуда из кладок молодые моллюски отсаживались в другие бактериологические ёмкости, наполненные свежей водой. Далее, методика их содержания была такой же, как и для взрослых моллюсков.

Давтян Э.А. [43] для содержания зараженных мирацидиями фасциол моллюсков *L. truncatula* и *L. peregra* применял стеклянные сосуды, диаметром от 10 до 24 см и высотой 6,5-7,5 см, куда в качестве корма закладывались водные растения и сухие листья, вымоченные в течение суток.

Сазанов А.М. [107, 109] содержал моллюсков *L. truncatula* в специально оборудованных «террариях», представляющих собой водонепроницаемые ящики размером 143,0 x 76,0 см, заполненные илом и растительностью, взятыми из мочажин. По мнению автора, пребывание моллюсков в таких условиях благоприятно сказывалось на их жизнедеятельности.

Васильева И.Н. [21] содержала моллюсков *L. truncatula* в специально оборудованных деревянных аквариумах с цементированным дном размером – 144-150 x 78-84 x 14-22 см, на дно которых укладывался слой (2-3 см) битого камня, гравия и песка. Затем, аквариумы загружались илом и «дерном» слоем в 4-6 см, взятыми непосредственно из мест обитания моллюсков *L. truncatula* и сверху укладывалось в качестве питательного субстрата небольшое количество прошлогодних листьев липы. По мере необходимости проводилось увлажнение дерна водой из бочки с краном. Спуск избытка воды из аквариумов производился через небольшое отверстие, закрытое мелкой металлической сеткой. Удаление накапливающихся продуктов метаболизма моллюсков проводилось один раз в декаду путем спуска из аквариума всей воды через специально вмонтированную в дно трубку. В каждый аквариум помещалось не более 600 экз. моллюсков, что составляло по 476-535 экз. на 1 м².

Горохов В.В. [29] для содержания моллюсков *L. truncatula* использовал эмалированные кюветы размером 35-40 см. На дно кювет помещался грунт естественного биотопа с глубины залегания 20-25 см, предварительно вымоченный в течение недели. Одновременно в кюветы помещались вымоченные в течение этого же срока времени листья ивы, клена, вяза. Кюветы с помещенными в них грунтом, толокном, мелом были готовы к заселению моллюсками через неделю. В таких условиях, по мнению автора, моллюски *L. truncatula* быстро растут и хорошо размножаются.

Соколина Ф.М. [119] испытала содержание моллюсков в кристаллизаторах и аквариумах с неровной поверхностью грунта через каждые 10-15 см длины и высотой не более 5-10 см. Ёмкости заливают водой, не меняя в последующем, и приоткрывают на 1/3 часть «искусственного» биотопа. Почва засеивается злаковыми растениями. Поверхностная часть грунта посыпается небольшим количеством толченого мела. Температура воды в биотопах колеблется в пределах (17-25±2) °С. Кормом для моллюсков служат мелко нарезанные овощи (морковь, капуста, картофель, зеленый салат, репа, редис). В летнее время прудовикам для кормления кладут свежие молодые листья высших растений.

Анализ приведенных данных литературы показывает, что наилучшей результат по разведению и поддержанию культуры моллюска – малого прудовика были получены по методикам, базирующимся на идеях воссоздания в лабораторных условиях элементов естественного биотопа с периодическим его восстановлением за счет использования материалов из природных биотопов.

2.6. Моделирование фасциолёза в условиях лаборатории

Для моделирования фасциолёзной инвазии в лабораторных условиях при решении прикладных вопросов профилактики и лечения фасциолёза, исследователи использовали различные методические приемы. Так значительное распространение получила модель Линерта, в которой жизнеспособных фасциол имплантировали в организм восприимчивых животных.

Исследователи в условиях лаборатории моделировали фасциолёзную инвазию на различных видах животных, используя в качестве объекта для временного (на период опыта) сохранения жизнеспособных фасциол, имплантацию в ткани экспериментальной модели (модель Линерта), а также воспроизводство инвазии на восприимчивых животных посредством их заражения инвазионной формой гельминта – адолескарием.

Зарубежные авторы предложили модель с целью изучения в эксперименте действия на фасциол химиотерапевтических препаратов [174]. Фасциол извлеченных из печени сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, овцы), отмывали и держали в физиологическом растворе, который подогревали до (37 ± 2) °С. Перед имплантацией их помещали в стеклянные трубочки (три фасциолы на одну трубочку). Молодых крыс – самцов, весом до 200 г., наркотизировали эфиром, фиксировали, выстригали шерсть на спине и делали два параллельных разреза кожи спины на уровне лопаток длиной около 0,7 см. В разрезы вставляли на глубину 3-5 см стеклянные трубочки с фасциолами и при помощи тонкой стеклянной палочки вводили осторожно проталкивали их в глубь разреза. Разрезы зашивали, крысам внутримышечно или внутрибрюшинно

вводили антибиотик.

Карелин С.Т. и Швец О.М. [61] повторяя лабораторную модель фасциолёза по Е. Lienert (1960), имплантировали фасциол морским свинкам и золотистым хомякам.

Наибольшее распространение получила модель классической инвазии, которая предусматривала воспроизводство в лабораторных условиях биологического цикла развития в различных вариантах.

Создавая модель классическим способом, лабораторных животных заражали адолескариями фасциол, которых получали от инвазированных промежуточных хозяев – моллюсков [9, 67, 68, 23].

С этой целью в лаборатории культивировали пресноводных моллюсков *L. truncatula*. Для заражения моллюсков вначале из фекалий овец методом (последовательных промываний) выделяли яйца фасциол. В яйцах, находящихся в воде, через 4-6 недель развивались мирацидии. Мирацидии выходили из яиц только на свету. Моллюсков для заражения помещали в чашки Петри с водой, мирацидии активно проникали в малого прудовика, которого через 1-2 часа снова помещали в аквариум или чашки Коха. В условиях лаборатории из промежуточного хозяина – моллюска через 50-80 дней выходили церкарии [146, 165]. В небольших водоемах, вблизи которых выпасается зараженный фасциолами скот, собирали естественно зараженных возбудителем фасциолёза моллюсков, от которых в условиях лаборатории получали адолескариев [118, 156, 180].

Согласно литературным источникам, из лабораторных животных к фасциолёзу восприимчивы золотистые хомяки, кролики, морские свинки, аутбредные и инбредные мыши, белые и хлопковые крысы (чувствительность 70-100 %). Кролики, несмотря на меньшую восприимчивость к фасциолам (заражается только 60 % животных), в сравнении с другими видами экспериментальных животных, являются довольно часто используемыми животными. При заражении кроликов весом 2-2,5 кг скармливают от 20 до 50 адолескарией на одно животное. Приживаемость фасциол при этом достигает

38 %, а из числа заразившихся кроликов погибает не более 30 % [122, 118].

Инвазионная доза для лабораторных мышей составляет 1-5 адолескариев. Однако, даже при этих условиях наблюдается высокая летальность (до 70 %) на 29-34-й день после заражения [53]. У инбредных мышей линий CFJ/74 и NMRJ/BOM летальность значительно ниже, но также очень высокая – 42-43 % [9, 174].

Юные белые аутбредные крысы, весом 160-170 г, заметно менее восприимчивы к инвазии *F. hepatica* (при почти 100%-ной ЭИ, ИИ составляет 2,92 гельминта на одно животное), чем крысята весом 65-75 г (ЭИ 100 % при интенсивности в среднем 7,5 паразита).

По данным результатов исследований зарубежных авторов, приживаемость *F. hepatica* у крыс линии Piebald Virol Glaxe (PVG) составляет 47 %, а линии Sprague Dawley – только 14 % [169]. Через 7-8 месяцев крысы линии PVG спонтанно полностью освобождаются от инвазии, показав абсолютную невосприимчивость к реинвазии.

Преимуществом моделирования фасциолёза на белых крысах является быстрое развитие паразита до половозрелой стадии: в течение 1,5-2 месяцев. У белых крыс при заражении 10-20 адолескариями на одно животное, через месяц единичные паразиты встречаются в желчных ходах, но большинство находятся в паренхиме печени [9, 174].

Таким образом, для лабораторной модели гельминта *F. hepatica* следует выбирать пероральное инвазирование восприимчивых грызунов адолескариями фасциол. Заражения инвазионной формой возбудителя *F. hepatica* для выбранной модели, следует выбирать экспериментальным путем.

2.7. Моллюскоцидные препараты растительного происхождения в профилактике инвазий

Моллюскоциды (от слова моллюски и лат. *caedo* – убивать), препараты для борьбы с вредными моллюсками и относящиеся к пестицидам. При помощи

моллюскоцидов уничтожают улиток и слизней, являющихся вредителями растений, а также пресноводных и земноводных моллюсков, промежуточных хозяев трематод и других гельминтов, вызывающих заболевания сельскохозяйственных животных и людей [31].

Эффективное действие моллюскоцидов основано на нарушении у моллюсков осморегуляции или передачи нервных импульсов (медный купорос и другие соединения меди) [31].

Моллюскоцидные препараты и средства выпускаются в различных препаративных формах – порошки, растворы, эмульсии, суспензии, отравленные приманки и другое. Ими обрабатывают пастбища, вносят в мелкие водоёмы (весной, после спада талых вод), размещают на поверхности почвы в посадках сельскохозяйственных культур. Некоторые моллюскоциды (например, оксид меди) используют для изготовления специальных красок, предохраняющих суда и подводные сооружения от обрастания моллюсками. Многие моллюскоциды токсичны для животных и человека. Производство, хранение и применение моллюскоцидов допускается только с разрешения соответствующих государственных органов, при строгом соблюдении установленных правил [31].

Для обеспечения безопасности и эффективности моллюскоцидной обработки наиболее эффективным является разработка и применение препаратов направленного действия на основе сырья растительного происхождения, которые характеризуются экологической чистотой, и направленностью действия.

В настоящее время в России Горчаковым В.В. разработана технология получения препаратов (порошка, водного, спиртового, аммиачного экстрактов) на основе биомассы ели европейской (*Piceaabies*), бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia*), дуба обыкновенного (*Quercusrobur*), однако они обладают или ограниченной, или удаленной сырьевой базой. Травянистое растение бадан толстолистный территориально доступен только в Забайкалье, Якутии, Алтае, Туве [40,41,42].

Так же многими исследователями предложены для борьбы с промежуточными хозяевами фасциол моллюскоциды, содержащие аттрактанты в виде аминокислот.

Так, в 2004 г. исследователями F. Tiwari и D. K. Singh из Горакхпурского Университета Индии, была проведена работа по применению в качестве моллюскоцида аттрактанта разных аминокислот, для борьбы с прудовиком *Lymnaea acuminata*. В исследованиях были испытаны сок и гранулы, содержащие аминокислоты с неполярными R-группами (пролин, триптофан), заряженной полярной группой (аргинин) и незаряженными полярными R-группами (серин, цитруллин и аспарагин). Эффективное моллюскоцидное действие препаратов и средств проявилось у незаряженной полярной аминокислоты (серин группы R) [202].

Некоторые углеводы (сахароза, мальтоза, глюкоза, фруктоза и крахмал) входят в состав приманок и тестируются на прудовике *Lymnaea acuminata*, промежуточном хозяине *Fasciola hepatica* и *Fasciola gigantica*. Исследованы поведенческие реакции моллюсков на действие моллюскоцидных средств с наличием этих углеводов. Значительные изменения в поведении (привлекательность) наблюдались у моллюсков даже тогда, когда пять углеводов использовались в низких концентрациях гранул аттрактанта [200].

В зарубежных странах применяются моллюскоцидные препараты и средства на основе гликозидов, выделенных из растительного сырья [31].

Сотрудники с 2015 г. малокологической лаборатории Srivastava A.K. и Singh V.K. университета Горакхпура в Индии, продолжают свои исследования по элиминации фасциолеза на территории страны. В своих опытах ученые применяют полученный из растительного сырья алкалоид пиперин, получаемый из различных сортов перечных растительных культур. Выделенный аттрактант (гидроксиамин с серином), оказал значительное снижение активности ацетилхолинэстеразы в нервной ткани прудовика *Lymnaea acuminata*. Кроме того, исследователи наблюдали сокращение репродуктивной способности у опытных брюхоногих [201].

Разработка доступных, безопасных, дешевых и высокоэффективных препаратов и средств на основе растительного сырья по сокращению популяции моллюсков на животноводческих пастбищах является актуальной задачей на сегодняшний день в борьбе и профилактике гельминтозных заболеваний животных.

3. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Материалы и методы

Основные экспериментальные и статистические данные по современной эпизоотической ситуации по фасциолёзу жвачных в Центральном регионе Российской Федерации были получены с территории Брянской области. Частично, инвазированный материал, исследовали с территорий Московской и Рязанской областей региона (промежуточные хозяева, моллюски рода *Lymnaea* и окончательные хозяева фасциолы *F. hepatica* – крупный рогатый скот, мелкий рогатый скот, лоси, европейские косули, кабаны и европейские бобры). Сбор статистического и инвазионного материала осуществлялся на станциях по борьбе с болезнями животных и убойных пунктах. Исследования проводились в период с 2014 по 2019 гг.. За отчетный период было исследовано 837 голов крупного рогатого скота и 315 голов мелкого рогатого скота. Фасциолёзную инвазию в печени жвачных животных регистрировали и исследовали на убойном пункте ООО «Оптимум» Московской области, куда данный скот привозили на убой и дальнейшую переработку. Проводя ветеринарно-санитарную экспертизу выявленных фасциол фиксировали в 70 %-ном этиловом спирте и жидкости Барбагалло и вели учет.

Сезонную и возрастную динамику зараженности крупного рогатого скота и овец фасциолами *F. hepatica* изучали в Трубчевском районе Брянской области (ЗАО «Новый путь») на основании ежемесячных копроовоскопических исследований 55 голов крупного рогатого скота и 35 голов овец. Пробы фекалий животных исследовали методом последовательных промываний для учета количества яиц в капле исследуемой жидкости. Исследования проводили каждый месяц на протяжении года. Возрастную динамику зараженности крупного рогатого скота и овец трематодами *F. hepatica* изучали в хозяйствах Брянской области на основании результатов ветеринарно-санитарной экспертизы (гельминтологических вскрытий печени и желчного пузыря (по К.И. Скрябину, 1928 г. [115]), 457 голов крупного рогатого скота отдельно по группам из разных возрастных групп 6-8 и старше 8 лет, и 154 головы овцы от одного года до 5 лет и

старше. Так же исследования возрастной динамики заболеваемости животных фасциолами проводили методом исследования проб фекалий у крупного рогатого скота возрастом от одного года до 5 лет.

Фасциолёзную инвазию у промежуточного хозяина в отношении малого прудовика *L. truncatula* и некоторые биологические свойства возбудителя *F. hepatica* исследовали:

- в неблагополучных по фасциолёзной инвазии хозяйствах Брянской области определяли плотность популяции моллюсков и их вид в биотопах, по определителям Старобогатова Я.И. с соавт. [124] и Круглова Н.Д. [71], а также динамику зараженности моллюсков *L. truncatula* партенитными стадиями возбудителя *F. hepatica*. Работу проводили с мая по октябрь 2016 года на трех пастбищах площадью от 12 до 27 га с находившимися на них биотопами с моллюсками. Пять биотопов площадью от 3 до 15 м².

Моллюсков малого прудовика в количестве от 149 до 151 особей исследовали каждый месяц в течение пастбищного периода (май-октябрь) на зараженность личинками фасциол компрессорным методом под микроскопом и вели учет;

- экологию и структурные элементы естественных мест обитания моллюсков, для дальнейшего изучения условий биотопа в лабораторных условиях. Это предполагало изучение – биотопа, а также экологических условий в данных биотопах, что позволило бы наиболее точно воссоздать условия содержания моллюска – промежуточного хозяина в лабораторных условиях;

- чувствительность и влияние возраста моллюска *L. truncatula* промежуточного хозяина к инвазированию мирацидиями *F. hepatica* в лабораторных условиях по гибели и количеству инвазированных особей различного возраста. Для этого восемь групп моллюсков в количестве 30 особей в каждой и разного возраста от 1 дня до 36 недели инвазировали мирацидиями (доза заражения 1-5 мирацидия на моллюска) и вели учет гибели прудовиков за период партеногонии и количество вышедших церкариев фасциолы.

Так же, в экспериментальной работе учитывали общий выход церкариев *F. hepatica* из малого прудовика разных возрастных категорий, что позволило определить наиболее «продуктивный» возраст моллюсков в отношении выхода адолескариев, для дальнейшей разработки сроков проведения профилактических моллюскоцидных мероприятий против промежуточного хозяина моллюска трематоды *F. hepatica*.

Получение адолескариев фасциол в условиях лаборатории.

В результате тщательного проведенного анализа литературных данных по биологии жизненного цикла возбудителя фасциолёза, выявилась трудоемкая задача в получении инвазионного материала – адолескариев, для решения которой необходимо было воспроизвести полный жизненный цикл фасциол в лабораторных условиях. Первой задачей явилась отработка методики содержания, разведения и получения в лабораторных условиях молодых, стерильных в отношении фасциолёзной инвазии особей промежуточного хозяина – моллюсков *L. truncatula*.

Для этого яйца *F. hepatica* выделяли из желчи, полученной из желчного пузыря печени больных животных, выявленных при убое на мясокомбинате, путем многократного отмывания, забуференным физиологическим раствором от остатков субстрата. Для этого на устье желчного пузыря накладывали зажим (чтобы после отделения желчного пузыря от печени предотвратить разлив желчи и яиц). Желчный пузырь с помощью ножниц отделяли от печени (отрезая ткани печени перед зажимом). После отделения, желчный пузырь помещали в стеклянный стакан объемом 1000 мл, снимали зажим и сливали желчь. Всего было получено 800 мл желчи.

Для обнаружения наличия яиц в полученной желчи, ее отстаивали в течение 10 минут, затем брали пластиковую пипетку объемом 1 мл и со дна стакана отбирали 0,5 мл желчи с осадком, которую наливали в часовое стекло, смешивая с 1 мл забуференным физиологическим раствором и просматривали под бинокулярной лупой с увеличением x10.

Для получения чистой культуры яиц последние отмыли забуференным физиологическим раствором от остатков желчи.

В стакан объемом 1000 мл с желчью налили 500 мл стерильного забуференного физиологического раствора и перемешали, полученную взвесь отстаивали в течение 30 минут. Затем надосадочную жидкость слили, оставив на дне 200 мл взвеси, в которую добавили ещё 500 мл стерильного забуференного физиологического раствора и тщательно перемешали. Данную процедуру проводили 10 раз. Контроль получения чистой культуры проводили под бинокулярной лупой с увеличением $\times 10$ (просматривали яйца на присутствие остатков желчи). Полученную культуру яиц в стерильном забуференном физиологическом растворе перелили в пробирку в объеме 10 мл.

После отмывания культуры яиц от остатков желчи, яйца микроскопировали под бинокулярной лупой (обращали внимание на оболочку яйца, зародыш), что позволило оценить морфологию полученных яиц.

Суспензию яиц фасциол на часовом стекле (в количестве 100 ± 10 экз.) накрыли крышкой от чашки Петри (при этом диаметр крышки был больше диаметра часового стекла и поместили в термостат на 11 дней при температуре $28\text{ }^{\circ}\text{C}$). Каждый день на 1-2 часа часовое стекло с культурой яиц доставали из термостата для аэрации яиц, а также следили за уровнем стерильного забуференного физиологического раствора, при испарении которого, его доливали водой до прежнего уровня.

Экспериментальную группу моллюсков *L. truncatula*, выращенных в лабораторных условиях, формировали за сутки до заражения мирацидиями фасциол. Каждый моллюск был заражен индивидуально (доза заражения 3 мирацидия на одного моллюска). Для этого малого прудовика поместили в лунку планшета для серологических реакций, и налили дистиллированную воду (1 мл) с температурой $(20 \pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$. Чашки Петри с развитыми до стадии мирацидия яйцами поместили под бинокулярную лупу (увеличение $\times 20$) с освещением, попадающий свет стимулирует процесс выхода мирацидиев из яиц. Автоматическим дозатором с одноразовым наконечником, отбирали, дозу мирацидий и заражали моллюска.

После заражения планшет с моллюсками закрыли стеклом и оставили на сутки. По истечению заданного времени производили контроль инвазирования, для чего осуществили визуальный просмотр лунок с помощью бинокулярной лупы (x20). После чего зараженных моллюсков переместили в кристаллизаторы с грунтом и помещали в климатическую камеру.

Определение клинических показателей крови экспериментально инвазированных животных (количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина) проводилось с помощью гематологического анализатора BC 2800 vet (Mindray) . Лейкоцитарную формулу – с помощью счетной камеры Горяева по окрашенному мазку крови, подсчитывая не менее 100 клеток. Биохимические исследования крови включали в себя: определение состояния белкового обмена (общий белок), углеводного обмена (глюкоза), липидного обмена (холестерин) и активности ферментов крови: аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ). Для биохимического исследования крови использовали полуавтоматический биохимический анализатор «Hitachi-902» и стандартный набор реактивов к нему.

Полученный цифровой материал привели в соответствие с Международной Системой Измерений, обеспечивающей единство измерений «Единицы физических величин» (ГОСТ 8.471 – 81), проанализировали, статистически обработали с помощью вариационной статистики по компьютерной программе «Биометрия» Плохинский Н.А.

Получение моллюскоцидного средства из Мыльнянки лекарственной (*Saponaria officinalis*), включает следующие этапы: сбор мыльнянки лекарственной в период цветения, сушку растения, растирку пестиком в ступке до состояния порошка. Для приготовления экстракта полученный порошок высыпали в коническую колбу и залили в массовом соотношении 1:100 этиловым спиртом. После чего в центрифуге в течение 24 часов при постоянной температуре (28±2) °С и (100±1) об. /мин. перемешивали полученную суспензию. Затем суспензию отфильтровывали через фильтровальную бумагу, и фильтрат концентрировали в роторном испарителе HEIGOLPH (Германия) при давлении

(4 ± 2) кПа, температуре (45 ± 2) °С и 280 об./мин., после чего концентрат досушивали в течение суток в вакуум-эксикаторе при давлении 10 кПа.

Гельминтокопрологические исследования проводили следующими методами

Метод последовательных промываний фекалий не требует сложного оборудования и реактивов, а эффективность метода при правильной работе высока. Для этого брали 3-5 г фекалий и смешали с водой объемом 30-50 мл. Смесь фильтровали через металлическое сито и отстаивали в течение пяти минут. Затем жидкость слили до осадка. К осадку вновь добавили аналогичный объем воды и опять отстаивали в течение пяти минут. Отмеченные манипуляции в дальнейшем повторяли (3-5 раз и более), пока осадок не станет прозрачным. После чего, слили всю жидкость, а осадок нанесли на предметное стекло и исследовали под микроскопом.

Метод Фюллеборна основан на всплывании яиц гельминтов и ооцист простейших. В качестве флотационной жидкости использовали насыщенный раствор аммиачной селитры, который готовили путем растворения 1500 г селитры в 1 литре кипящей дистиллированной воды с последующим его охлаждением и фильтрованием через бумажный фильтр. Плотность раствора $1,29 \text{ г/см}^3$. Пробу фекалий массой 1 г в ступке залили 3-5 мл насыщенным раствором натрия хлористого, тщательно перемешали пестиком и по мере размешивания добавляли раствор, порциями доводя объем до 15 мл. Затем процеживали через сито в чистый стакан и отстаивали в течение 40 минут. За это время яйца нематод и ооцисты простейших, удельный вес которых меньше веса насыщенного раствора, всплывают на поверхность и концентрируются на поверхностной пленке. В дальнейшем, с помощью прикосновения металлической петли к разным местам поверхностной пленки снимали три капли раствора и наносили на предметное стекло и исследовали под микроскопом.

Исследование моллюсков

Тело моллюска расчленили на отдельные части и органы с помощью ножниц, затем исследовали компрессорным способом. На нижнюю пластину компрессория МИС-7 клали исследуемого моллюска и плотно прижимали

верхней пластиной. Исследования проводили под микроскопом, при увеличении $\times 4$, $\times 10$. При исследовании особое внимание уделяли верхушке тела (первые два-три оборота), где расположена пищеварительная железа моллюска – печень. В ней и рядом с ней отмечали реди и церкарии трематод. Под микроскопом исследовали морфологические признаки и делали замеры внутренних органов личинок.

4. РЕЗУЛЬТАТЫ

4.1. Современная эпизоотическая ситуация по фасциолёзу жвачных в Центральном регионе России

Основные исследования и мониторинг эпизоотической ситуации по фасциолёзу сельскохозяйственных жвачных в Центральном регионе России осуществляли в Брянской области, являющейся типичным районом развитого скотоводства. Одновременно провели анализ ситуации по фасциолёзу и другим гельминтозам у диких животных в охотхозяйствах Московской и Рязанской областей.

Сбор статистического материала для оценки эпизоотической ситуации по фасциолёзу и получение инвазионного материала для экспериментальных исследований проводили на станциях по борьбе с болезнями животных, убойных пунктах, территориях охотхозяйств, а также на пастбищах в местах существования биотопов малого прудовика *L. truncatula* – промежуточного хозяина возбудителя фасциолёза, в период 2014-2018 гг.

За это время было исследовано по методике полного гельминтологического вскрытия (К.И. Скрябин, 1928 г.) [115], 457 туш крупного и 154 туш мелкого рогатого скота. Гельминтокопрологические исследования (по Фюллеборну, методом последовательных промываний) фекалий проводили в хозяйствах, и в частном секторе, всего исследовано 380 голов крупного рогатого скота, и овец – 161 животное.

Фасциолёзную инвазию печени жвачных исследовали и регистрировали на убойном пункте мясокомбината ООО «Оптимум» Московской области, куда данный скот из Брянской области привозили на дальнейшую переработку.

В охотхозяйствах Московской и Рязанской областей исследованы: лоси (5 голов), европейские косули (4 головы), кабаны (34 головы) и европейские бобры (12 голов).

Данные исследования туш жвачных на фасциолёзную инвазию Брянской области представлены на рисунке 1 и в таблице 4, 5. Высокий уровень ЭИ крупного рогатого скота фасциолёзом отмечался в период 2014 г. – 37,5 %, 2015 г. – 14,8 %, 2016 г. – 8,3 %, 2017 г. – 17,6 %, 2018 г. – 7,8 % (табл. 4). Неблагополучные пункты с высоким показателем зараженности фасциолёзом отмечали в Брянском, Трубчевском, Стародубском, Новозыбковском, Клетнянском и Унечском районах области.

Таблица 4. – Результаты ветеринарно-санитарной экспертизы убойного скота (собственные исследования 2014-2018г.г.)

Район	Исследовано, голов	Инвазировано, голов	ЭИ, %	ИИ, экз.
2014 г.				
Стародубский	32	12	37,5	18-25
Трубчевский	74	2	2,7	32-41
Среднее значение			20,1	
2015 г.				
Трубчевский	42	5	11,8	7-35
Брянский	27	4	14,8	18-24
Среднее значение			13,3	
2016 г.				
Унеченский	48	4	8,3	19-32
Стародубский	65	5	7,6	25-37
Среднее значение			7,9	
2017 г.				
Трубчевский	71	10	14,0	11-35
Брянский	34	6	17,6	19-41
Среднее значение			15,8	
2018 г.				
Новозыбковский	64	5	7,8	19-25
Среднее значение			7,8	

В то же время согласно ветеринарной отчетности станций по борьбе с болезнями животных фасциолёзная инвазия жвачных животных регистрируется в пределах от 0,36 до 2,18 % случаях (табл. 5).

Таблица 5. – Статистические данные ветеринарной отчетности, станций по борьбе с болезнями животных, распространения фасциолёзной инвазии у крупного рогатого скота в условиях Брянской области 2013-2017г.г.

Неблагополучный пункт	Всего исследовано, голов	Инвазировано, голов	ЭИ, %
2013 г.			
Трубчевский район	955	13	1,36
Брянский район	1553	7	0,45
Стародубский район	785	7	0,89
Новозыбковский район	1019	20	1,96
Унечский район	974	5	0,51
Среднее значение			1,034
2014 г.			
Брянский район	949	6	0,63
Трубчевский район	1116	4	0,36
Стародубский район	1015	8	0,78
Унечский район	634	5	0,79
Среднее значение			0,64
2015 г.			
Клетнянский район	413	9	2,18
Среднее значение			2,18
2016 г.			
Трубчевский район	812	6	0,73
Брянский район	715	9	1,2
Среднее значение			0,95
2017 г.			
Трубчевский район	520	7	0,97
Новозыбковский район	716	3	0,57
Среднее значение			0,77

Экстенсивность заражения животных, (%)

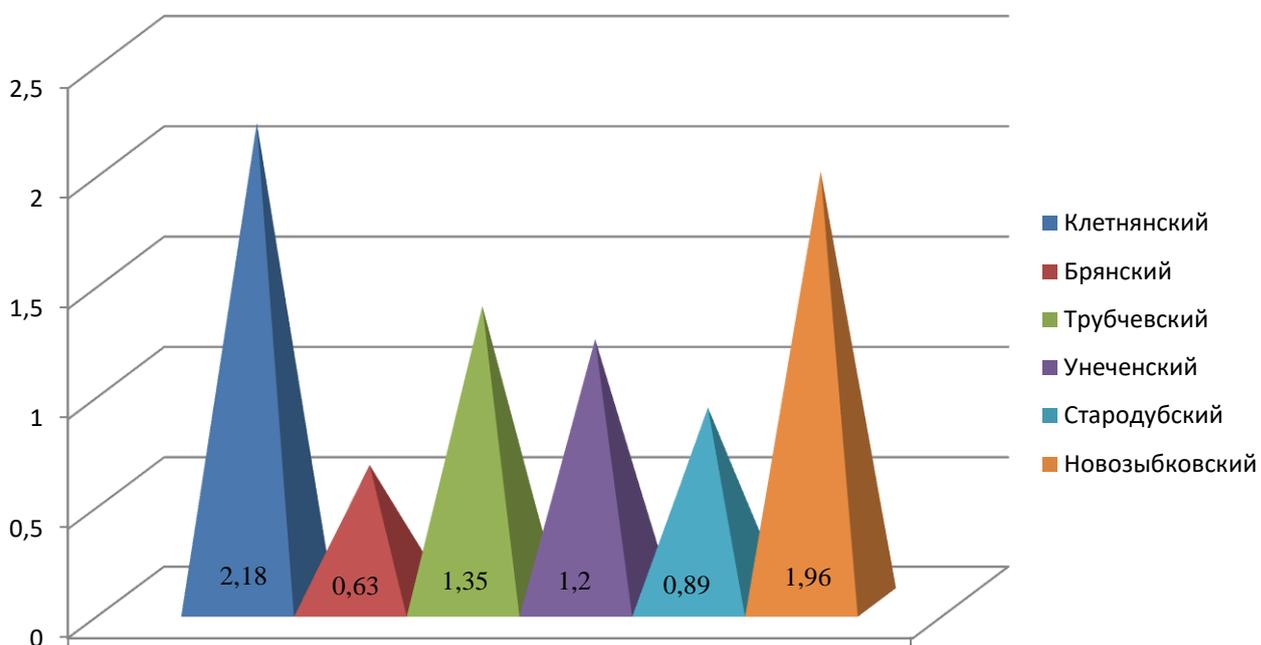


Рисунок 1. – Неблагополучные районы Брянской области по фасциолёзу крупного рогатого скота за 2013-2017г.г.

Этот вывод подтверждают следующие данные. При убое крупного рогатого скота, привезенного из Брянской области, на мясокомбинат в Домодедовский район Московской области, неоднократно регистрировали фасциолёзную инвазию среди взрослого поголовья, поступающего из неблагополучных районов области.

Инвазированными фасциолами оказалось 53 головы крупного рогатого скота (11,5 %) из 457 (статистика мясокомбината по убою животных из Брянской области) Фасциолёзную инвазию взрослого поголовья скота, поступающего из хозяйств, регистрировали от 2,7 до 37,5 % случаев. Интенсивность инвазирования фасциолами печени животных составила от 7 до 41 трематод.

Во время проведения ветеринарно-санитарного осмотра печени отметили увеличение, уплотнение тканей и лимфатических узлов, утолщение желчных ходов с наличием серовато-белых тяжей, густой и грязно-бурой желчи.

Полученные результаты оценки распространения фасциолёзной инвазии среди жвачных животных не противоречат данным распространения фасциолёза в Нечерноземной зоне России, полученным Кошеваровым Н.И. [69]. Автор регистрировал фасциолёз у крупного рогатого скота в 18,7 % случаев со средней интенсивностью инвазии ($23,5 \pm 2,6$) экземпляров трематод на голову и отмечал, что наибольший процент поражения приходится на взрослое поголовье животных.

Среди диких животных по результатам патологоанатомического вскрытия фасциолёзную инвазию выявили у одного кабана (2,9 %), добытого в охотхозяйстве Шиловского района Рязанской области. При исследовании туш лосей, европейских косуль и европейских бобров возбудитель фасциолёза не обнаружен.

Необходимо отметить, что возбудитель фасциолёзной инвазии регулярно выявляется у крупного рогатого скота в Центральной России. Официально, регистрируют инвазию в 0,64-2,18 % случаев.

Собственные результаты исследований животных показывают, что при убое крупного рогатого скота ЭИ составляет 2,7-37,5 %, то есть в 4-18 раз более чем в отчетности ветеринарной службы.

4.1.1. Сезонная и возрастная динамика выявления фасциолёзной инвазии у дефинитивных хозяев

Исследование сезонной динамики заражения возбудителем *F. hepatica* у крупного и мелкого рогатого скота проводили путем исследования фекалий животных копрологическими методами.

Результаты исследований показали, что фасциолёзную инвазию регистрируют в течение всего года, как у крупного рогатого скота, так и у овец. У крупного рогатого скота ЭИ колеблется от 9,0 % в летние месяцы и до 16,6 % – в зимний сезон (табл. 6). У овец ЭИ фасциолами колебалась от 8,5 % летний период до 17,6 % – в зимние месяцы. Таким образом, максимальная инвазированность

крупного рогатого скота и овец отмечается в зимний период, что обусловлено достижением имагинальной стадии новой генерации фасциол.

Как и в работах предыдущих исследователей (Степанов И.А. [125]; Ромашов В.А., Шелякин И.Д. [104]; Коляда Е.Е. [65]; Кошеваров Н.И. [69], нами отмечено, что с возрастом зараженность животных фасциолами повышается.

Результаты гельминтологических вскрытий печени и желчного пузыря, а также копроовоскопические исследования фекалий животных приведены в таблице 7. Результаты проведенных исследований крупного рогатого скота (837 голов) и овец (154 голов) разных возрастных категорий указывают на значительную разницу в степени зараженности фасциолёзом – *F. hepatica* животных. У крупного рогатого скота ЭИ фасциолами составила в возрасте до года 1,07 %; 1-3 лет – 2,6 %; 4-5 лет – 6,2 %; 6-8 лет – 9,7 % и старше 8 лет – 12,8 %. Овцы в возрасте до года были инвазированы – 5,7 %; 1-2 лет – 9,1 %; 3-4 лет – 11,6 % и старше 5 лет – 17,2 %.

Таблица 6. – Сезонная зараженность взрослого крупного рогатого скота и овец фасциолами *F. hepatica* по результатам копроовоскопических исследований

Года месяц	Исследовано, гол.		Из них инвазировано, гол.		Экстенсивность, %	
	КРС	овец	КРС	овец	КРС	овец
<u>2016</u>						
Май	54	35	5	4	9,2	11,4
Июнь	55	34	5	3	9,0	8,8
Июль	53	34	5	4	9,4	11,7
Август	53	35	5	3	9,4	8,5
Сентябрь	55	34	5	3	9,0	8,8
Октябрь	54	34	6	4	11,1	11,7
Ноябрь	55	34	7	4	12,7	11,7
Декабрь	52	33	6	5	11,5	15,1
<u>2017</u>						
Январь	53	34	8	6	15,0	17,6
Февраль	54	35	9	5	16,6	14,2
Март	54	34	7	4	12,9	11,7
Апрель	55	34	7	3	12,7	8,8

Таблица 7. – Возрастная динамика выявления инвазии *F. hepatica* по результатам ветеринарно-санитарной экспертизы и копроовоскопических исследований

Возраст животных	Исследовано животных, голов		Результаты исследования животных, из них	
	при ветеринарно-санитарной экспертизе	копроовоскопические исследования	инвазировано, голов	ЭИ, %
Крупный рогатый скот				
До года	-	93	1	1,07
1-3 года	-	112	3	2,6
4-5 лет	-	175	11	6,2
6-8 лет	184	-	18	9,7
Старше 8 лет	273	-	35	12,8
Всего	457	380	68	
В среднем				6,5
Овцы				
До года	38	-	2	5,7
1-2 года	44	-	4	9,1
3-4 лет	43	-	5	11,6
Старше 5 лет	29	-	5	17,2
Всего	154		16	
В среднем				10,9

Таким образом, наибольшую роль в циркуляции фасциолёзной инвазии играет крупный рогатый скот старше 8 лет и овцы старше 4 лет, которые инвазированы в наибольшей степени. По нашему мнению, они играют основную роль в циркуляции возбудителя *F. hepatica*. Экстенсивность инвазии фасциолёзной инвазией у крупного рогатого скота и овец повышается с возрастом за счет накопления инвазии и возможности повторного заражения в последующие годы. Максимальная зараженность фасциолами *F. hepatica* крупного рогатого скота нами отмечена у животных в возрасте старше 8 лет, и овец – 5 лет и старше.

4.2. Создание и изучение искусственного биотопа моллюсков - малого прудовика (*L. truncatula*)

Теоретическое обоснование по созданию искусственного биотопа представлено в обзоре литературы (п.1.5.).

Создание искусственного биотопа обусловило необходимостью исследования естественных мест обитания моллюсков малого прудовика, условий биотопов, для дальнейшего воспроизводства его в лабораторных условиях. Это предполагало изучение места обитания – биотопа и условий, которые сложились в данных биотопах, что позволило бы наиболее точно воссоздать условия содержания моллюска – промежуточного хозяина в лабораторных условиях. Для выявления естественных мест обитания промежуточного хозяина и определения видового состава моллюсков, плотности заселения ими данной территории, в мае-июне были проведены полевые работы, с выездом на биотопы в Московскую, Брянскую и Рязанскую области. Пунктами исследования были открытые пастбища, (рис. 2) со следующим характером рельефа: местность в нескольких местах пересекалась кустарниками, свободная от кустарников территория целиком была увлажнена, причем большая часть низменных мест летом не пересыхала. Также в некоторых местах территория пастбищ пересекалась искусственно вырытыми канавами глубиной 60-70 см (мелиоративные каналы), которые были всегда наполнены водой.



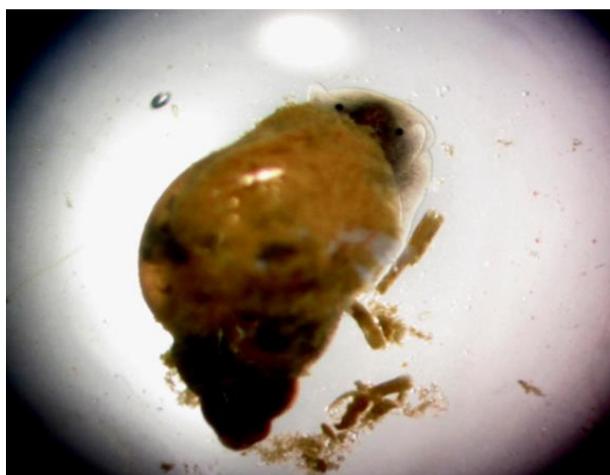
а)

б)

Рисунок 2. – а) Пастбище, не благополучное по фасциолёзу жвачных (оригинал); б) биотоп малого прудовика на пастбище (оригинал)

В ненастную дождливую погоду вода выходила из берегов, образуя вокруг мочажины, лужи, с разнообразной фауной.

Из водных беспозвоночных организмов в исследуемых биотопах обитали пиявки, личинки ручейников, стрекоз, комаров, из моллюсков – лужанки – *Viviparus contectus* (до 4 экз. на 1 м²), обыкновенный прудовик – *L. stagnalis* (до 44 экз. на 1 м²), болотный прудовик – *L. palustris* (до 35 экз. на 1 м²), роговые катушки – *Planorbis corneus* (2-18 экз. на 1 м²) и, совсем незначительное количество малого – *L. truncatula* (рис. 3) (3-17 экз. 1 м²) и ушкового прудовика – *L. auricularia* (до 3 экз. 1 м²).



а)



б)

Рисунок 3. – Малый прудовик (*L. truncatula*) (оригинал): а) живой моллюск, б) погибшие моллюски

На территории пастбищ в Брянской области протекают небольшие ручьи с медленным течением и застойной водой. Из моллюсков здесь обитали – катушка *P. corneus* (11 экз. на 1 м²) и малый прудовик *L. truncatula* (3-5 экз. 1 м²).

Водоемы, обнаруженные при исследовании пастбищ, были представлены не просыхающими мочажинами, вода в которых поступала из подпочвенных родников. Мочажины представляют собой водоемы разной площади (от 2 м²) с илистым дном, покрытые слоем воды от 3 до 25 см. Также водоемы были плотно населены малым прудовиком. Растительность мочажин представлена в значительной части: пыреем ползучим, подорожником-частухой и осокой. Фауна в мочажинах довольно богатая и представлена следующими видами: дафнии, беспозвоночными водными организмами, личинками стрекоз, ручейников, водяных клопов, комаров. Из моллюсков в них обитают помимо малого прудовика еще катушки. Плотность поселения малого прудовика в мочажинах достигает 12-24 экз. на 1 м². Вблизи мочажин и ручьев есть многочисленные лужи, представляющие увлажненные следы от копыт животных (коров, овец, лошадей), а также в некоторых биотопах обнаруживали фекалии животных (рис. 4).



Рисунок 4. – Фекалии крупного рогатого скота на пастбище (оригинал)

Воды в таких водоемах было очень мало, иногда её совсем не было, но, благодаря близости стационарных водоемов дно и стенки впадин оставались влажными. Плотность поселения в них малого прудовика *L. truncatula* в некоторых случаях доходит до 70 экз. на 1 м², другие же виды моллюсков в таких биотопах – отсутствовали.

В местах наибольшего сосредоточения моллюсков измерили рН воды и грунта (лакмусовый индикатор), при этом показатель рН составлял 7-7,5, температуру воды (из-за малой глубины была близка к температуре воздуха – 17-22 С°). В целях наибольшего приближения к естественным условиям, при создании искусственного биотопа из мест с наибольшей плотностью поселения прудовиков *L. truncatula* отобрали образцы грунта (глину) и растительности.

Глину собирали вблизи мочажин и луж, на глубине почвы до 15-20 см. Для этого верхний слой грунта срезали штыковой лопатой до указанной глубины. Глину для перевозки помещали в полиэтиленовые мешки. Вместе с глиной в лабораторию была завезена и травяная растительность.

Моллюска – малого прудовика собрали пинцетом и поместили в пластиковые бутылки, которые были наполнены влажной травой. Горло бутылок закрыли марлевыми пробками, для естественного воздухообмена. Транспортировка моллюсков в таких условиях составила в среднем не более 2 суток.

4.2.1. Создание и требования к микроклиматическим параметрам искусственного биотопа моллюска – малого прудовика *L. truncatula*

Изучив экологию и структурные элементы естественных мест обитания моллюсков, для моделирования этого в лабораторных условиях применяли следующее:

В климатическую камеру поместили кристаллизаторы объемом 5 литров (рис. 5) заполненные грунтом толщиной до 5 см (рис. 6) привезенным из естественных мест обитания моллюсков.

В слое грунта были сделаны неглубокие углубления, в которые залили дехлорированную воду до уровня 3-4 см, добавляли мел 0,3 г, толкно (1 г) и 5-8 мацерированных листьев тополя, ясеня, осины, липы на кристаллизатор;



Рисунок 5. – Кристаллизатор в климатической камере (общий вид) (оригинал)



Рисунок 6. – Оснащенный кристаллизатор с моллюсками *L. truncatula* (оригинал)

Для аэрации смонтированы системы подачи воздуха (аквариумные компрессоры и система подводящих трубопроводов (силиконовые шланги диаметром 4мм)) в каждый кристаллизатор.

По мере испарения доливали очищенную воду.

Температуру в климатической камере поддерживали на уровне физиологической нормы для малого прудовика (22 ± 2) С°.

«Фотопериод» моделировали периодическим включением люминесцентных ламп дневного света (служат для поддержания и размножения растений в искусственных условиях), которые равномерно освещают всю площадь поверхности подготовленных «биотопов», и программируемого реле времени, с помощью которого устанавливали недельный режим «светового дня» продолжительностью (12-14 часов).

Контроль освещенности поверхности кристаллизатора проводили с помощью портативного люксметра ЛМ – 130.

Замену глины и почвы в кристаллизаторах – биотопах проводили каждые 6 месяцев.

Контроль кислорода в почве кристаллизатора проводили с помощью анализатора растворенного кислорода Mettler - Toledo AG 8603.

По результатам выполненной работы разработана «Модифицированная методика содержания моллюсков *Lymnaea truncatula* с целью получения адолескариев возбудителя фасциолеза *Fasciola hepatica*» и одобрены методические рекомендации по использованию.

4.2.2. Культивирование промежуточного хозяина (моллюска *L. truncatula*) фасциолы *F. hepatica* в условиях лаборатории

В дальнейшем в подготовленные биотопы – кристаллизаторы были помещены моллюски *L. truncatula*. Плотность поселения моллюсков не превышала плотность – наблюдаемую в естественных биотопах.

Результаты наблюдений позволяют отметить активную миграцию по биотопу малых пудовиков, а также вблизи мест «выхода воздуха», для аэрации, на силиконовых шлангах. Большинство моллюсков находились на мацерированных листьях, что свидетельствовало о процессе питания прудовиков (рис. 7).



Рисунок 7. – Подвод силиконовых трубок к искусственному биотопу моллюсков *L. truncatula* (оригинал)

Яйцекладки «икры», были выявлены через 5 дней после заселения моллюсков на стенках кристаллизаторов, на границе «сухой» и «влажной» зоны, а также на выступающих над водой участках грунта.

Изучение динамики появления яйцекладок показало, что в течение двух недель в среднем одним моллюском было отложено по 5 яйцекладок (в яйцекладке по 10-14 экз.), при просмотре которых (увеличение $\times 20$) регистрировали мелкую, развивающуюся молодь малого прудовика.

Вода в биотопах оставалась прозрачной, ее рН составляла 7,5.

В пробах воды при просмотре под биноклем (увеличение $\times 40$) находили свободноживущих простейших (инфузории, амёбы и др.).

Кормление моллюсков осуществляли один раз в три дня. При этом обязательно в качестве минеральной подкормки добавляли мел в качестве компонента, необходимого для формирования раковины моллюска (раковина имела темно-коричневый окрас, при растирании с трудом ломалась, что свидетельствует о её хорошем состоянии). Корм (1 г овсяного толокна), прошлогодние листья деревьев и минеральную подкормку (0,3 г) вносили в каждое углубление (два углубления в грунте кристаллизатора).

Для получения стерильной молоди моллюсков, отложенные кладки икры осторожно переносили с помощью кисточки в кристаллизатор с водой, уровень которой достигал 2 см, воду доливали по мере испарения.

В таких условиях содержали яйцекладки с «икрой» до появления молодых моллюсков прудовиков через (20-24 суток, рис.8).

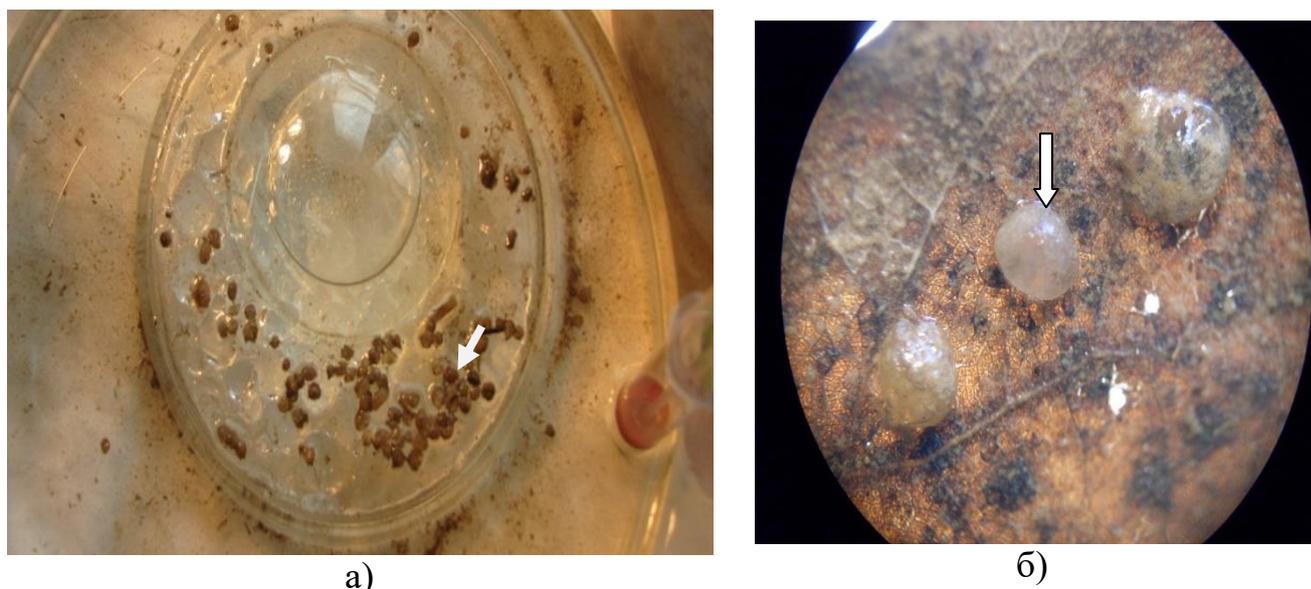


Рисунок 8. – Яйцекладки «икры» малого прудовика (оригинал): а) на чашке Петри; б) увеличение x40

По истечении 20-24 суток из яйцекладок икры появились молодые моллюски, которые с помощью кисточки аккуратно переносили в приготовленные искусственные биотопы, с их последующим наблюдением за ростом и развитием.

В результате проведенной работы были получены 300 особей молодых «чистых» от инвазии моллюсков, которые активно росли, развивались и в дальнейшем давали новое поколения моллюсков – малого прудовика.

В процессе проведенной работы были изучены естественные структурные элементы естественных мест обитания малого прудовика (биотопы на пастбищах) и на их основе была создана искусственная модель биотопов с естественным «биоценозом», которая обеспечила поддержание (рост, развитие, размножение) моллюсков *L. truncatula* в условиях лаборатории.

Применение современного автоматизированного регулируемого оборудования и приборов (климатической камеры, приборов измерения рН, растворенного кислорода, поддержания и контроля освещенности, влажности, температуры, систем воздуха обеспечения (компрессор) и систем трубопроводов (силиконовые шланги) позволяют моделировать климатические параметры искусственного биотопа и режим светового дня.

4.2.3. Фасциолёзная инвазия у моллюска – промежуточного хозяина. Некоторые биологические свойства *F. hepatica* в отношении малого прудовика *L. truncatula*

Несмотря на то, что цикл развития фасциолы известен, многие вопросы биологии промежуточного хозяина еще до конца не изучены. Биологический цикл трематоды *F. hepatica* исследуют как в естественных, так и в моделируемых лабораторных условиях. С целью выяснения некоторых биологических свойств возбудителя фасциолёза *F. hepatica* в отношении малого прудовика *L. truncatula* нами проведены исследования промежуточного хозяина фасциолы моллюсков, взятых из естественных мест обитания биотопов и выращенных в условиях лаборатории.

Промежуточным хозяином возбудителя *F. hepatica* являются моллюски *L. truncatula* [114, 100, 11, 20, 18]. Но, в цикле развития *F. hepatica* не исключено участие и других видов прудовиков (*L. stagnalis*, *Galba palustris* и др.) [105, 107, 108]. В связи, с чем нами изучено распространение моллюсков указанных видов на территории Брянской области (рис. 9).



а)



б)



в)



г)

Рисунок 9. – а) Малый прудовик (*L. truncatula*) (оригинал), б) Болотный прудовик (*L. palustris*) (оригинал), в) Ушковый прудовик (*L. auricularia*) (оригинал), г) Обыкновенный прудовик (*L. stagnalis*) (оригинал)

Результаты наблюдений позволяют отметить, что в водоёмах на территории нами исследованных пастбищ моллюски в количественном соотношении распределены неодинаково. Связана это с различными абиотическими факторами – температура, концентрация солей и характер почвы, рельеф и глубина водоёма и с биотическими факторами – растительность, наличие хищников, конкурентов, и других.

По плотности поселения моллюсками, на территории исследованных пастбищ Брянской области наиболее богатыми являются водоемы и старые мелиоративные каналы со слабым течением, лужи, мочажины, не большие водоёмы, большинство которых в летний период года высыхает.

Такие биотопы, заселены – моллюсками разных видов, в том числе малым прудовиком – *L. truncatula*, плотность поселения которого достигает 50 экз./м².

В своих исследованиях процесс развития возбудителя фасциолёза в промежуточном хозяине моллюске – *L. truncatula* изучили в моделируемых условиях лабораторного искусственно созданного биотопа.

Одновременно, для выбранного района (Брянская область) дали оценку по распространению промежуточного хозяина моллюска и его заражение возбудителем фасциолёза.

Исследования на зараженность моллюсков *L. palustris*, *L. stagnalis*, *L. auricularia*, *L. truncatula* личинками фасциол проводили в мае, июне, июле, августе, сентябре и октябре. Таким образом, было выявлено, что личиночными стадиями развития фасциол был инвазирован только малый прудовик. Остальные лимнеиды были свободны от данной трематодозной инвазии. В отдельных случаях встречались личинки эхиностоматид, отличающиеся от партенитных стадий развития фасциол более активной подвижностью и линейными размерами.

Результаты исследований приведены в таблице 8.

Таблица 8. – Плотность популяции моллюсков *L. truncatula* и динамика зараженности личиночными стадиями *F. hepatica* в биотопах Брянской области

Период наблюдения	Плотность обитания моллюсков в биотопе, экз/ м ²	Количество моллюсков, экз.		Зараженность моллюсков, %
		Исследовано	Инвазировано	
Май	11±2	151	2	1,3
Июнь	15±2	150	4	2,6
Июль	16±3	150	7	4,6
Август	19±2	149	10	6,6
Сентябрь	25±3	149	12	8,0
Октябрь	15±2	151	4	2,6

Обращает на себя внимание тот факт, что неблагоприятные по фасциолёзной инвазии хозяйства сосредоточены в районах, где «выпас» животных проводят в пойменной зоне с функционирующими биотопами моллюсков *L. truncatula*.

Из таблицы 8 видно, что малый прудовик – *L. truncatula* инвазирован личинками фасциол в меньшем количестве весной (1,3 %). В течение летних месяцев инвазия нарастает и достигает максимума в осенний период (2,6-8,0 %). В

мае зараженные малые прудовики содержали личиночные формы фасциол – редий и зрелых церкарий. Последние в момент исследования проявили значительную активность, быстро теряли хвост, инцистировались в воде и на различных растениях. В июне у моллюсков преобладают спороцисты и незрелые редии фасциол. В июле-сентябре они содержат в большинстве случаев редии и церкарии. Небольшая зараженность малого прудовика редиями и церкариями возбудителя фасциолёза в весенний месяц (май) доказывает то, что в моллюске *L. truncatula* личинки трематоды *F. hepatica* зимний период года переживают частично. Весенне-летний период года заражение малого прудовика личиночными формами трематоды *F. hepatica* возрастает и достигает в сентябре до 8,0 %. Исходя из результатов работы, можно отметить, что максимальная плотность моллюсков *L. truncatula* в биотопах пастбищ отмечена в августе – сентябре. В эти же месяцы зафиксирована наибольшая зараженность промежуточного хозяина – моллюска малого прудовика личиночными формами фасциол.

Так же необходимо отметить, что моллюски *L. truncatula* заражены личиночными формами фасциол только в стоячих водоемах находившихся на территории пастбищ. Малый прудовик, выловленный из водоемов с быстрым течением, был свободным от фасциолёзной инвазии. Это объясняется тем, что яйца фасциол и вылупившиеся из них личинки при большой скорости течения воды быстро рассеиваются и не в состоянии инвазировать моллюсков. Поэтому между дефинитивным и промежуточным хозяевами фасциол в таких условиях тесная связь отсутствует.

Из зараженного личинками фасциолы моллюска *L. truncatula* за пастбищный сезон может выйти во внешнюю среду в среднем 200-500 и более церкарий [118, 21]. Как показывают наблюдения, одновременно покидают моллюсков лишь несколько церкарий. При плотности 100 моллюсков на 1 м² и 2-3 %-й ЭИ (наиболее часто встречающийся процент зараженности моллюсков) число адолескариев паразита на растениях пастбища может составлять несколько

тысяч, а их локализация в местах водопоя может оказать решающее влияние на инвазию основного хозяина.

Необходимо отметить, что лабораторный биотоп позволяет изучить различные аспекты и получить данные для изучения объяснения некоторых природных факторов фасциолёзной инвазии. В частности, срока выхода церкариев фасциол, число вышедших адолескариев, в зависимости от дозы инвазирования промежуточного хозяина, характер развития спороцист трематоды, феномена появления в процессе ларвального развития дочернего поколения редий и ряд других.

Инвазированность промежуточных хозяев «партенитными стадиями» фасциол выявляли микроскопированием по наличию в организме моллюска дочерних, материнских спороцист и редий с церкариями (рис. 10, 11, 12, 13).

Выход инвазионных личинок определили подсчетом адолескариев, полученных из группы экспериментально зараженных моллюсков и инцистированных на поверхностях экспериментальных объектах (нарезанных листьях пырея ползучего и раковинах промежуточных хозяев).

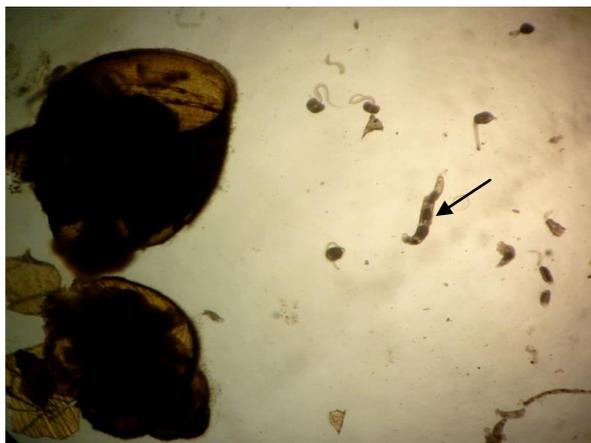
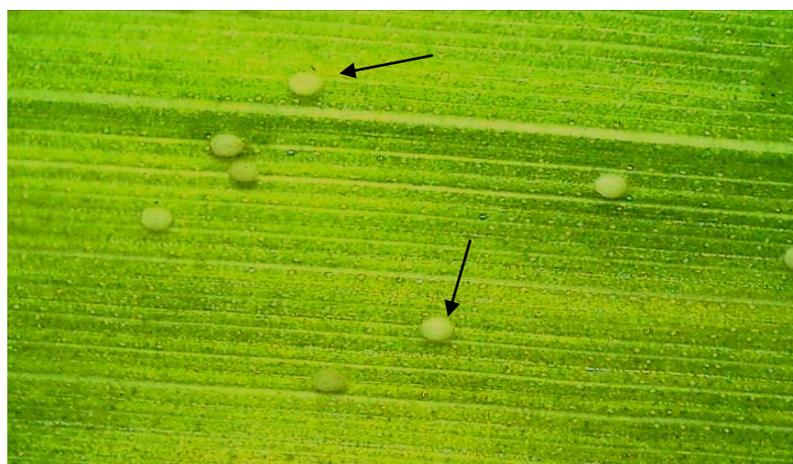


а)



б)

Рисунок 10. – Партеногенезные стадии развития фасциол и возбудителя фасциолёза в организме промежуточного хозяина – моллюска (оригинал): а) материнская спороциста, x100 (окуляр – x10, объектив – x10), б) редия с церкариями, x40 (окуляр – x10, объектив – x4)

Рисунок 11. – Редия – *F. hepatica*Рисунок 12. – церкарий – *F. hepatica*Рисунок 13 – Адолескарии *F. hepatica* инцистированные на фрагментах растений, х4 (оригинал)

На начальном этапе наших исследований была определена чувствительность промежуточных хозяев – моллюсков *L. truncatula* к инвазированию мирацидиями *F. hepatica* по эффекту их гибели.

Затем определили процент зараженности прудовиков после экспериментального заражения и, одновременно, учитывали период начала и окончания выхода церкариев из моллюсков.

Динамика гибели моллюсков *L. truncatula*, при экспериментальном заражении мирацидиями фасциол, приведена в таблице 9.

Таблица 9. – Динамика гибели моллюсков в периоды партеногении и выхода церкариев фасциол

Возраст моллюсков	Срок наблюдения, сутки								число погибших/ общее число моллюсков
	период партеногении				период выхода церкарии				
	10	14	18	27	38	45	49	51	
1 день	28/30	-	-	-	-	-	-	-	28/30
5 дней	-	3/30	6/27	7/21	12/9	-	-	-	28/30
7 дней	-	-	-	12/30	11/18	4/7	-	-	27/30
2 недели	-	-	-	6/30	3/24	7/21	5/14	4/9	25/30
4 недели	-	-	-	3/30	6/27	4/21	8/17	1/9	22/30
8 недель	-	-	-	-	-	4/30	6/26	3/20	13/30
16 недель	-	-	-	-	-	3/30	2/27	3/25	8/30
36 недель	-	-	-	-	-	-	-	-	0/30
Примечание: числитель — число погибших моллюсков, знаменатель — общее число моллюсков в группе									

Гибель моллюсков во время партеногенетического развития отметили с 10-х суток по 27-е.

Во время выхода церкариев – с 38-х по 51-е сутки. Основная часть однодневных прудовиков погибла до 10-х суток исследований (28 из 30 особей). В период партеногенеза личинок фасциолы гибель отмечена у прудовиков в возрасте 5 и 7 дней, 2 и 4 недель. В период выхода церкариев из организма прудовика гибель промежуточных хозяев отмечена с 38-х по 51-е сутки в возрастных группах 5 и 7 дней, 2-16 недель. Не восприимчивы к возбудителю фасциолёза оказались моллюски в возрасте 36 недель.

Инвазированность моллюсков возбудителем фасциолёза представлена в таблице 10.

Таблица 10. – Влияние возраста моллюсков на способность к инвазированию мирацидиями фасциолы

Возраст моллюсков	Количество моллюсков, экз.		Инвазировано моллюсков, %
	взятых в опыт	зараженных	
1 день	30	28	93,3
5 дней		28	93,3
7 дней		27	90,0
2 недели		27	90,0
4 недели		27	90,0
8 недель		24	80,0
16 недель		13	43,3
36 недель		0	0

Наибольший процент инвазированных моллюсков оказался в двух возрастных группах – 1 и 5 дней. ЭИ прудовиков возбудителем фасциолёза при экспериментальном заражении составила 93,3 %. Несколько менее инвазированными (90,0 %) были промежуточные хозяева в возрасте от 7 дней до 4 недель. Зараженность личинками трематоды 8 и 16-недельных прудовиков составила 80,0 % и 43,3 %, соответственно.

Срок выхода первых церкариев из моллюсков в разных возрастных группах составляет 34-38 суток. Окончание выхода церкариев из моллюсков наблюдали с 64-х по 80-е сутки опыта. Общий выход церкариев трематоды каждой возрастной группы из малых прудовиков также отличался. Прудовики суточного возраста после экспериментального инвазирования все погибли на 10-е сутки. При этом выход церкариев отсутствовал, вероятно, из-за возможной смерти, как самого хозяина, так и личиночных форм паразита во время партеногонии.

Результаты, полученные в нашей работе, согласуются с данными литературных источников [9, 82, 21, 23].

Среди 5-ти, 7-ми суточных и 16-ти недельных моллюсков выход церкариев *F. hepatica* составил 304, 903 и 1256 экз., соответственно.

Массовый выход церкариев из экспериментально инвазированных моллюсков малого прудовика зарегистрирован у двух, четырех и восьми недельного возраста (рис. 14).

У 36-ти недельных моллюсков выход продукции личинок трематоды не наблюдали.

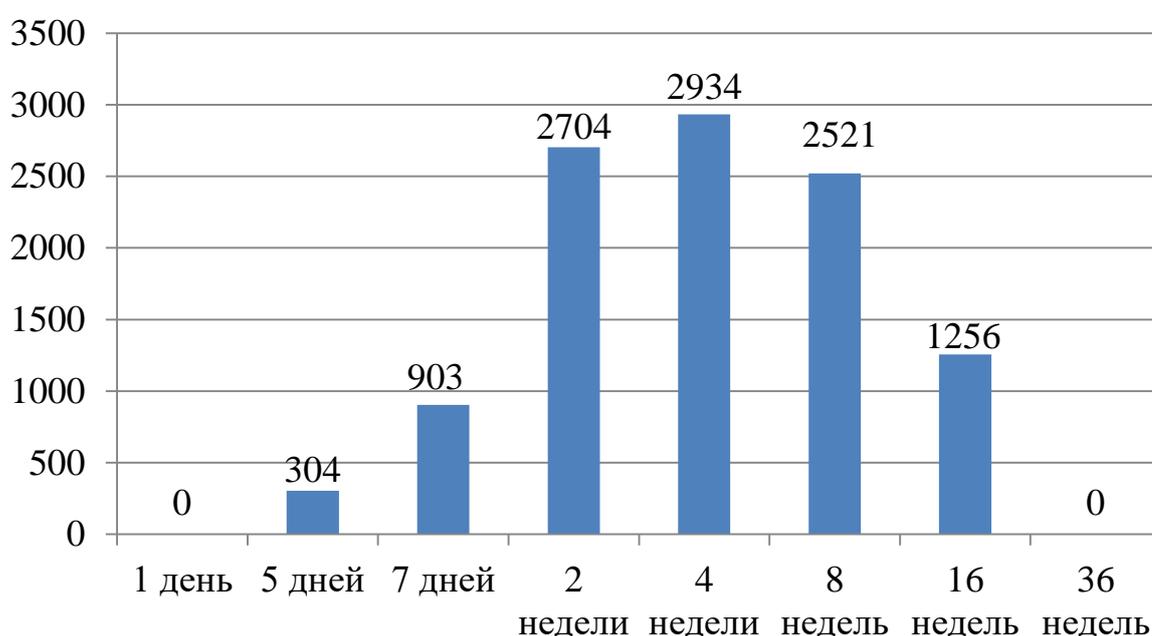


Рисунок 14. – Общий выход церкариев *F. hepatica* из моллюсков малого прудовика разных возрастных категорий

Таким образом, при лабораторном заражении малого прудовика *L. truncatula* различных возрастных категорий отмечена значительная гибель молодых особей моллюсков от инвазирования мирацидиями *F. hepatica*.

Большая гибель промежуточных хозяев трематоды в начальный период партеногенеза отмечается у моллюсков в возрасте 5 и 7 дней, 2 и 4 недели. Восприимчивый возраст у малого прудовика к паразиту – от 5 дней до 8 недель. Не восприимчивы к возбудителю *F. hepatica* оказываются моллюски в возрасте 36

недель и старше. Начало выхода мезоцеркариев фасциолы из моллюсков в условиях лаборатории наблюдали с 34-х по 38-е сутки, окончание – с 64-х по 80-е сутки с момента инвазирования мирацидиями.

Массовый выход церкариев гельминта из промежуточного хозяина отмечен в возрасте 2-16 недель.

Анализируя полученные результаты экспериментальных работ, следует рекомендовать проведение профилактических мероприятий против промежуточного хозяина – моллюсков *F. hepatica* в возрасте 2-16 недель, которые появляются в весенне-летний (май-июнь) и летне-осенний (август-сентябрь) пастбищные периоды.

4.2.4. Получение адолескариев фасциол в условиях лаборатории

Трудоемкость в получении инвазионного материала от трематод, прежде всего заключается в их сложном жизненном цикле.

Знание биологии моллюсков и трематод, их развитие на всех этапах жизненного цикла, чрезвычайно важно, так как это лежит в основе профилактики инвазии на конкретной территории (пастбища, заливные пойменные луга, территории, отведенные под сенокосы), а также в нашей работе для получения инвазионного материала в лабораторных условиях, используемого при оценке разрабатываемых средств дезинвазии и лечения.

Жизненный цикл трематод связан с чередованием поколений и со сменой животных-хозяев. Биологический цикл возбудителя фасциолёза складывается из четырех периодов: эмбриогонии, партеногонии, цистогонии и маритогонии [46].

Первый период – эмбриогония соответствует развитию зародышевой клетки в яйце с момента оплодотворения до выделения из яйца во внешнюю среду личинки – мирацидия [46].

Второй период начинается с момента внедрения мирацидия в организм промежуточного хозяина – моллюска и заканчивается выхождением церкарий из его во внешнюю среду [46].

Третий период – цистогония характеризуется превращением свободного церкария в неподвижную цисту, в результате чего формируется адолескарий [46].

Четвертый период – маритогония заключается в превращении адолескарий в теле дефинитивного хозяина во взрослую особь, способную к «половому» размножению [46].

Необходимо отметить и то, что для получения инвазионного материала – адолескариев, также можно воспользоваться уже инвазированными моллюсками (собранные в неблагополучных местах инвазии по фасциолёзу), что исключает необходимость их разведения в лаборатории.

Однако это может быть ограничено определенным сезоном (сбор моллюсков проводят в весенне-летний и летне-осенний периоды), а также большими и неразрешимыми трудностями поиска в природе зараженных моллюсков и идентификации личиночных форм трематод.

Что касается метода получения инвазионного материала от искусственно зараженных моллюсков, он не имеет этих недостатков, но весьма громоздок, затратен и требует большого количества времени.

Группу зараженных моллюсков (рис. 15), содержали в климатической камере в кристаллизаторах объемом 3-5 л (по 30 эк. в каждом), заполненных на половину грунтом (глина).

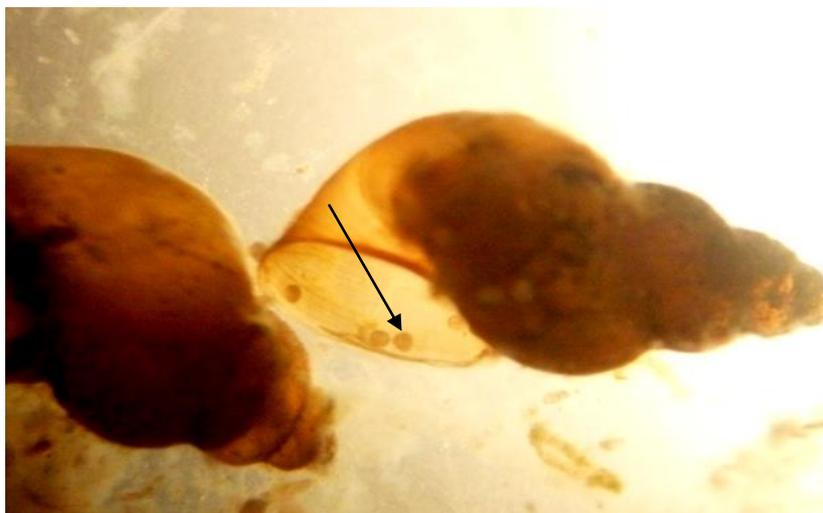


Рисунок 15. – зараженный моллюск малый прудовик, (увеличение x10) с инцистированными на раковине адолескариями – *F. hepatica* (оригинал)

В глине имелись, небольшие углубления 4х6 см их заполняли дехлорированной водой. Воду по мере испарения доливали, моллюсков 30 суток содержали в данных условиях. С 30-го дня прудовиков *L. truncatula* пересадили в кристаллизаторы, выстланные (папиросной) бумагой под пергамент, и залили дехлорированной водопроводной водой (глубиной 3-4 см). В воду погрузили термометры для контроля температуры (оптимальная температура должна быть 22 ± 2 °C). В таких условиях моллюсков содержали до полного прекращения выхода церкариев (50-80 суток). Для создания наилучших условий содержания кормление: толокно и смену воды осуществляли через каждые два дня. По нашим наблюдениям, это также стимулирует наибольший выход церкариев из промежуточного хозяина – моллюска.

Для сбора адолескариев фасциол использовали нарезанные фрагменты растений (листья семейства злаковых – Пырей ползучий, Тимофеевка луговая, Райграс и др.), размером 4-6 см. Фрагменты растений в количестве 5 экз. размещали в одном кристаллизаторе на поверхности воды (рис. 16).



Рисунок 16. – Фрагменты травы в кристаллизаторе с моллюском малым прудовиком (оригинал)

Ежедневно проводили просмотр кристаллизаторов для контроля процесса

начала выхода церкариев и их инцистирования на фрагменты растений, по мере фиксации адолескариев на фрагментах растений собирали адолескариев. Инцистированные на растениях адолескарии выглядят в виде «шаровидных» образований белого цвета размером 0,2-0,4 мм (рис. 17). Сбор адолескариев из кристаллизаторов производили путем снятия пинцетом фрагментов растений с поверхности воды.



а)

б)

Рисунок 17. - Инцистированные адолескарии фасциолы (оригинал), а) на фрагменте травы, б) в воде под микроскопом, увеличение x100

Растения с фиксированными на них адолескариями (рис. 17) фасциол клали в чашки Петри с водой, подсчитывали число адолескариев.

В каждую чашку Петри помещали до 7 фрагментов растений в среднем по 150-350 экз. адолескариев на одном фрагменте.

Таким образом, для упрощения контроля развития партенитных стадий у возбудителя *F. hepatica* следует применять современные климато-технические комплексы с искусственно устанавливаемыми и контролируруемыми параметрами

микроклимата (температура, влажность, освещенность, рН среды, наличие кислорода и др.).

Этого достаточно для получения полноценной инвазионной культуры возбудителя фасциолёза, которая может быть использована в прикладных разработках современных, моллюскоцидных препаратов для воздействия на биотоп возбудителя и средств дезинвазии на возбудителя.

4.2.5. Грызуны – как лабораторная модель фасциолёза

Следует подчеркнуть, что использование исторически закрепленных окончательных хозяев (крупный и мелкий рогатый скот) в практике научно - исследовательской деятельности является весьма трудоёмким затратным и требующим соответствующей развитой инфраструктуры.

В этом аспекте обоснованный выбор лабораторных биологических моделей (кролики, белые аутбредные крысы и т.д.) и их способность в решении в контролируемых условиях многочисленных задач биологии возбудителя, воздействие возбудителя на макроорганизм (в плане изменений биохимических, гематологических, иммунологических показателей и т.д.), диагностики, профилактики и лечения инвазии более оправдан и оптимален.

В связи с этим в сравнительном аспекте проведено модельное исследование паразитологических, гематологических и биохимических показателей при экспериментальном фасциолёзе лабораторных животных.

В исследованиях использовали инвазионный материал, полученный от крупного рогатого скота (10 голов) черно-пестрой породы 6-х и 9-ти летнего возраста, естественно инвазированных фасциолами и поступивших на мясокомбинат Московской области из хозяйства Стародубского района, Брянской области. От убойных животных брали фекалии из прямой кишки, кровь из яремной вены и печень с четко идентифицированным возбудителем инвазии. Сравнительные аспекты инвазии изучали на лабораторных моделях.

В качестве лабораторной модели были использованы 20 белых аутбредных

крыс (возраст 3 месяца, вес 250-300 г) и кролики порода Советская Шиншилла, 6 животных, (возраст 6 месяцев, вес 3,5-3,8 кг) инвазирующая доза составила 10 адолескариев (по Б.А. Астафьеву, 1989) *F. hepatica* на животное. При этом предполагалось, что такая инвазионная доза имеет место в большинстве случаев естественного заражения дефинитивного хозяина. Адолескарии трематоды *F. hepatica* получали путем выплода церкариев из малого прудовика, воспроизведенного и выращенного в условиях лаборатории. Экспериментально инвазированных животных держали 3-3,5 месяца, согласно условиям содержания и разведения животных в вивариях [54]. Затем, опытных животных подвергали эвтаназии, и провели копрологическое исследование фекалий (методом последовательного промывания), гематологический и биохимический анализ крови, а также исследовали внутренние органы и взрослых трематод. В пробах фекалий животных объемом 3 г выявили наличие яиц возбудителя методом последовательных промываний. В цельной крови определяли количество эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов и лейкограмму общепринятыми методами; концентрацию мочевины, глюкозы, холестерина, креатина, кальция, общего белка, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и щелочной фосфатазы (ЩФ) – на биохимическом анализаторе «Hitachi-902»; белковые фракции – методом электрофоретического фракционирования [24, 58, 89, 139].

Для стабилизации крови был использован гепарин фирмы «Биохим». В качестве контроля показателей крови использовали пробы от незараженных животных тех же возрастных групп (5 голов крупного рогатого скота, 3 крысы и 3 кролика). Полученные показатели обработаны и проанализированы с помощью вариационной статистики по компьютерной программе «Биометрия» Плохинский Н.А. [101] (табл. 11).

Таблица 11. – Показатели фасциолёзной инвазии у животных при исследовании

Объект исследования	Показатели ЭИ, (метод последовательных промываний), %	Количество трематод в печени, экз.	Приживаемость гельминтов, %	Размер выделенных марит гельминта, см
Естественное инвазирование (доза заражения и срок инвазии неизвестен)				
Крупный рогатый скот	8 из 10 (80,0)	16-58	-	3,8±0,1
Экспериментальное инвазирование (3-3,5 месяца после инвазии, доза заражения 10 адолескариев)				
Крыса белая лабораторная	20 из 20 (100)	2-5	35±14,1	2,8±0,5
Кролик Советская Шиншилла	6 из 6 (100)	3-5	41±7,5	2,9±0,4

У естественно инвазированных фасциолами животных в пробах фекалий из прямой кишки методом последовательных промываний наличие яиц было зарегистрировано в 80 % случаев (8 положительных проб из 10 исследованных проб) (табл. 11).

При экспериментальном заражении лабораторных грызунов яйца гельминта в пробах фекалий были выявлены в 100 % случаев. Число обнаруженных трематод *F. hepatica* в печени естественно инвазированных животных (величина инвазирующей дозы и приживаемость возбудителя не установлена) варьировала от 16 до 58 экземпляров, у экспериментально инвазированных от 2 до 5 экземпляров.

В опытном эксперименте приживаемость фасциол составила 35 % у белых крыс и 41 % у кроликов. Размер половозрелых гельминтов также отличался, в лабораторных животных составил 2,8-2,9 см, а у крупного рогатого скота 3,8 см. Это естественно зависит от размера печени животного.

Таким образом, копрологическим методом последовательных промываний при исследовании проб фекалий от крупного рогатого скота на фасциолёз не всегда удается диагностировать естественное инвазирование.

С помощью аналитических исследований картины крови установили физиологическое состояние и показатели обмена веществ в организме естественно и экспериментально инвазированных животных. Результаты исследований представлены в таблицах 12 и 13.

Таблица 12. – Гематологические показатели крови животных при естественном заражении (КРС) и экспериментальном заражении фасциолами (лабораторной крысы, кролика)

Показатели крови животных	Объект исследования						Уровень достоверности
	Крупный рогатый скот		Крыса белая лабораторная		Кролик Советская Шиншилла		
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	
Эритроциты, $10^{12}/л$	5,5±0,08	6,5±0,05	5,9±0,12	7,9±0,11	4,9±0,07	5,8±0,21	P<0,09
Гемоглобин, г/л	97,6±1,00	116,31±1,30	86,0±2,00	117±1,00	118,6±0,30	136,6±0,40	P<0,09
Лейкоциты, $10^9/л$	11,0±0,50	8,2±0,40	16,1±1,10	14,3±0,90	14,1±3,70	8,0±1,90	P<0,09
лейкограмма							
Нейтрофилы: палочкоядерные, %	7,9±0,25	5,6±0,14	9,1±0,09	7,2±0,16	29,0±0,11	27,1±1,0	P<0,09
сегментоядерные %	17,9±1,30	20,1±0,80	13,2±0,20	16±1,00	4,7±0,50	6,1±0,20	P<0,09
Базофилы, %	0,8±0,19	1,2±0,29	0,3±0,09	0,6±0,12	1,1±0,15	2,0±0,13	P<0,09
Эозинофилы, %	12,6±3,9	6,3±0,4	8,3±2,7	1,3±0,2	7,2±1,4	1,8±0,4	P<0,09
Моноциты, %	4,8±0,26	7,9±0,34	1,2±0,12	4,5±0,20	3,3±0,32	8,0±0,51	P<0,09
Лимфоциты, %	56,0±3,65	58,9±1,47	60,1±1,16	70,4±2,14	30,1±1,48	55±1,12	P<0,09

Таблица 13. – Биохимические показатели сыворотки крови животных при естественном заражении (КРС) и экспериментальном заражении фасциолами (лабораторной крысы, кролика)

Показатели крови животных	Объект исследования						Уровень достоверности
	Крупный рогатый скот		Крыса белая лабораторная		Кролик Советская Шиншилла		
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	
Общий белок, г/л	75±1,13	69,6±1,25	78,0±1,13	69,0±1,9	64,1±0,71	58,0±1,6	P<0,09
Белковые фракции:							
альбумины, %	31,1±0,78	42±1,60	29,7±0,90	37,1±0,10	18,9±0,80	30,1±2,30	P<0,09
α-глобулины, %	19,1±0,82	14,1±0,54	28,9±0,25	21,8±0,60	15,1±0,65	9,0±0,70	P<0,09
β-глобулины, %	24,0±1,35	15,8±1,20	27,1±1,34	19,8±0,15	16,1±2,11	8,0±1,21	P<0,09
γ-глобулины, %	24,6±1,78	18,6±1,23	25,1±1,69	20,2±0,21	26,0±1,13	19,0±0,16	P<0,09
Мочевина, мм/л	4,0±0,19	4,2±0,13	8,6±1,36	9,0±1,23	4,6±0,12	3,2±2,09	P<0,09
Креатинин, мкМ/л	73,5±2,90	62,9±0,90	78,0±1,20	71,0±1,50	71,5±1,80	65,1±1,50	P<0,09
АЛТ, ед/л	36,7±0,30	28,3±0,20	39,6±1,60	25,8±0,70	38,4±2,10	24,0±0,60	P<0,09
АСТ, ед/л	51,3±4,70	42,4±0,20	48,9±0,90	39,2±1,20	54,8±3,70	40,1±0,80	P<0,09
ЩФ, ед/л	77,3±0,40	42,6±0,30	81,3±4,70	27,6±1,50	64,7±2,70	32,1±1,30	P<0,09
Глюкоза, мм/л	3,5±0,06	3,81±0,05	14,2±0,01	15,3±1,10	6,8±1,13	7,9±0,09	P<0,09
Холестерин, мм/л	1,8±0,11	2,4±0,08	1,7±0,05	2,2±0,15	0,89±0,13	0,99±0,15	P<0,09
Кальций, мм/л	2,1±0,13	2,3±0,07	1,9±0,12	2,6±0,14	2,1±0,31	2,6±0,27	P<0,09

Из анализа данных таблиц 12 и 13 следует, что, как и в случае инвазирования крупного рогатого скота, при инвазии лабораторных животных наблюдается изменения гематологических, биохимических показателей крови животных. В обоих случаях (дефинитивный хозяин и модельное животное) имеет место быть уменьшение количества эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитоз в крови животных. Изменение концентрации лейкоцитов сопровождается изменениями в лейкограмме. Увеличение содержания эозинофилов у всех животных свидетельствует об аллергическом действии паразита на организм. Изменение показателей белкового обмена у исследуемых животных: увеличение количества общего белка, альбуминов и γ -глобулинов свидетельствуют об изменениях белоксинтезирующей функции печени в следствии нахождения фасциол в паренхиматозном органе. Так же повышение уровня креатина в крови является «косвенным» признаком нарушения функции печени и белкового обмена. Все вышеперечисленные изменения свидетельствуют о протекании инвазии и содержание взрослых фасциол в организме животных (с учетом массы печени животных). При этом возрастание уровня щелочной фосфатазы (ЩФ) свидетельствует о протекании воспалительного процесса, а завышенные уровни аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ) о нарушении проницаемости плазматических мембран и цитолиза гепатоцитов, а также концентрации ферментов в крови животных [24, 58, 89, 141].

Полученный результат свидетельствует о возможности воспроизведения фасциолёзной инвазии с особенностями и характерными признаками данного заболевания независимо от сезона года в условиях лаборатории.

4.3. Моллюскоцидные препараты в профилактике фасциолёзной инвазии

Представленные данные и их анализ свидетельствуют о том, что одним из направлений борьбы с фасциолёзной инвазией является целенаправленное воздействие на элементы биологического цикла развития возбудителя.

Можно полагать, что воздействие на популяцию промежуточного хозяина возбудителя фасциолёза *F. hepatica* моллюска малого прудовика *L. truncatula* за счет санации естественных биотопов с применением эффективных моллюскоцидных средств является ведущим способом борьбы с этой инвазией, экологически безвредным для сложившегося в биотопе биогеоценоза.

Для уничтожения одного из звена трематодоза *F. hepatica*, промежуточного хозяина моллюска *L. truncatula*, применяют моллюскоцидные препараты синтетического и растительного происхождения, разные по структуре и механизмам действия, токсичности и стоимости препарата.

Препараты синтетического ряда представлены соединениями меди, мышьяка, цинка, бария, ртути и полихлортерпенами, спиртами, фенолами и т.д. являются эффективными препаратами моллюскоцидного действия. Но применение их на больших площадях не только дорого, но и не исключает возможность экологических проблем безопасности для сложившегося биогеоценоза и сельскохозяйственных животных из-за своей высокой токсичности, и возможности накапливаться (кумуляроваться) в организме.

В этом аспекте поиск моллюскоцидных веществ из числа природных соединений в растительном сырье является важным и оправданным направлением нашего исследования.

4.3.1. Современные моллюскоцидные препараты растительного происхождения

При решении практических вопросов приходится сталкиваться с задачей, какой препарат использовать и как его применять. Способы применения различных форм моллюскоцидов избираются в зависимости от биологических особенностей моллюсков, их экологии, условий применения, биотопов, с учетом остальных оптимальных технических препаратов.

Наиболее известны и часто применимы такие способы как опрыскивание, опыление, рассев или разбрасывания гранул, шариков и др., введение

моллюскоцидов в струю воды, наполняющей водоём, использование аэрозолей, капельное внесение, фумигация, раскладывание привлекающих приманок, покрытие поверхностей (пропитывание, вкрапление).

Как за рубежом, так и у нас в стране сульфат меди (медный купорос) до настоящего времени является наиболее часто употребляемым моллюскоцидом. Его можно считать своего рода эталоном моллюскоцидной активности.

Для обеспечения безопасности и эффективности моллюскоцидной обработки наиболее эффективным является разработка и применение препаратов направленного действия на основе сырья растительного происхождения, которые характеризуются экологической чистотой, и направленностью действия (являются менее токсичными для других сообществ организмов биогеоценоза выбранного биотопа).

Учитывая природный характер растительного сырья можно полагать, что стоимость производства таких препаратов может быть относительно невысокой в сравнении с препаратами химического синтеза. Затраты на приготовления сырья из Мыльнянки лекарственной составляют 8,3 рубля за 1 кг., медный купорос – 400 рублей за 1 кг. При применении медного купороса на биотопе из расчета 2 г/м² [31] затраты составляют 80 копеек на обработку 1 м², Мыльнянки лекарственной при применении 10 г/м² – 8 копеек 1 м².

Разработка безопасного, дешевого и высокоэффективного способа для уничтожения моллюсков является актуальной задачей на сегодняшний день в качестве борьбы и профилактики гельминтозных заболеваний животных при выгульном (пастбищном) их содержании.

В этом направлении Горчаковым В.В. достигнуты определенные положительные результаты. Так, разработана технология получения препаратов (порошка, водного, спиртового, аммиачного экстрактов) на основе биомассы бадана толстолистного (*Bergenia crassifolia*), ели европейской (*Piceaabies*), дуба обыкновенного (*Quercusrobur*), однако они обладают или ограниченной, или удаленной сырьевой базой [40, 41, 42]. Травянистое растение Бадан

толстолистный территориально доступен только в Забайкалье, Якутии, Алтае, Туве.

Короткий срок выращивания, высокая урожайность и широкая доступность (распространенность) предлагаемого сырья из Мыльнянки по сравнению с елью и дубом доказывает перспективность использования моллюскоцидных свойств растения.

При решении в рамках настоящей работы было обращено внимание на Мыльнянку лекарственную – *Saponaria officinalis*.

Косвенным подтверждением перспективности использования препарата на основе Мыльнянки лекарственной является тот факт, что в местах массового произрастания данного растения популяция моллюсков практически отсутствует.

4.3.2. Эффективность моллюскоцидного действия препарата на основе Мыльнянки лекарственной – *Saponaria officinalis*

В качестве борьбы и профилактики с гельминтозными заболеваниями животных фармакопейным способом используют препараты Мыльнянки лекарственной (*S. officinalis*) для борьбы с моллюсками (прудовиками, планорбидами и другими) – промежуточными хозяевами возбудителей гельминтозных заболеваний животных, в том числе фасциолёза, дезинвазии выгульных пастбищ, и это может быть использовано в системе сезонных профилактических мероприятий.

С целью расширения ареала растительных моллюскоцидных препаратов и расширения сырьевой базы предлагаем использовать препараты из корней, стеблей, листьев, цветов и плодов Мыльнянки лекарственной (*S. officinalis*), распространенной повсеместно. В нашем же случае, целенаправленно использовали препараты Мыльнянки, которые содержат в себе поверхностно активные вещества (ПАВ) – тритерпеновые сапонины, обладающие моллюскоцидными свойствами [31]. Особенно богаты сапонидами корни и корневища, в них этих веществ обнаружено до 20-25 %, из которых выделены

сапонарозид, гипсогенин ($C_{30}H_{46}O_4$), сапорубрин и сапорубриновая кислота. В листьях найден флавоновый гликозид сапонарин ($C_{27}H_{32}O_{16}$), витексин ($C_{21}H_{20}O_{10}$), сапонаретин. Растительные сапонины являются экологически «чистыми» и слабо и очень слаботоксичными для млекопитающих животных, рыб, земноводных, гидробионтов и растительности.

Наиболее близким аналогом препарата является отвар Мыльнянки. До настоящего изобретения авторами [31] был предложен прототип – отвар из корней, стеблей и листьев растения в концентрации 1000 мг/л (0,1 %-й). Моллюскоцидный эффект наблюдался на 6-е сутки. Нами предложена фармакопейная форма Мыльнянки в виде спиртового и аммиачного экстрактов, которые уступают по эффективности моллюскоцидного действия отвару. В предложенной 0,1 %-й концентрации авторами [31] отвар растения показывает слабую эффективность и небольшой срок хранения. При приготовлении отвара в режиме более $100^{\circ}C$ частично разрушаются органические вещества, в том числе и сапонины, обладающие моллюскоцидным действием.

Предлагаемые нами препараты (спиртовой и нашатырный экстракты) имеют более длительный срок хранения по сравнению с отваром и обладают большей эффективностью.

Цель нашей работы заключалась в разработке экологически безопасного, быстро действующего, доступного, мало затратного и эффективного препарата с моллюскоцидным эффектом. Химически активную группу веществ (сапонины) из растения получили в виде порошка, спиртовой и аммиачной экстракции.

Мыльнянка, или Сапонáрия (лат. *Saponária*) – род однолетних, двулетних и многолетних травянистых растений семейства гвоздичных (*Caryophyllaceae*) (рис. 18). Название рода происходит от лат. *Sapo* – «мыло», по способности корней образовывать и выделять пену. На территории России и стран СНГ повсеместно произрастает 10 видов растений этого рода [14].



Рисунок 18. – Мыльнянка лекарственная (*Saponaria officinalis*)
(оригинал)

Мыльнянка лекарственная является сильным отхаркивающим и противокашлевым средством, применяемым для разжижения густой бронхиальной слизи при бронхитах, пневмонии, коклюше, мучительном кашле, а также она проявляет антимикробное, мочегонное, желчегонное, противовоспалительное, ранозаживляющее и противоревматическое лечебные действия [44, 98].

Также препараты Мыльнянки увеличивают выделение пота и мочи, прекращают изжогу и тошноту. Местно (в виде ванн, примочек, кашицы из порошка, мази) лечат чесотку, экзему, чешуйчатый лишай, гнойные раны, фурункулёз, золотуху, различные кожные сыпи и дерматиты. Замечено, что очень эффективен отвар Мыльнянки против Чешуйчатого лишая. Кашицу (измельчённые корни с небольшим количеством горячей кипячёной воды) местно используют для лечения гнойных ран, рожистых воспалений, экзем. Сапонины

Мыльнянки оказывают местное раздражающее действие с высокой гемолитической активностью.

Получение порошка, экстрактов Мыльнянки лекарственной.

Сбор растения производится в сезонный период с июля по октябрь месяцы по достижению максимального выхода вегетационной массы. В это время в физиологии растения происходит цветение, созревание семян и накопление поверхностно активных веществ (ПАВ). Растения выкапывают с корнями, промывают в водопроводной воде от грунта и сушат в тени без доступа солнечных лучей до влажности 15-18 %. Далее готовят моллюскоцидные препараты.

Порошок препарата из корней, листьев, стеблей, цветков и семян растения готовят измельчением высушенного сбора в ступке с пестиком до размера 1-3 мм частиц.

Подготовленный препарат (порошок) Мыльнянки лекарственной помещается в коническую колбу и заливается 96 %-м этиловым или нашатырным спиртом из расчета на 1г 100 мл жидкости. Колба устанавливается на орбитальную качалку в термостатирующей среде при температуре (28 ± 2) °С. Перемешивание осуществляется при 100 об. /мин. Экстрагирование производится в течение 24 часов. Полученный экстракт фильтруется через фильтровальную бумагу, а затем через мембранный фильтр с порами размером 0,2 мкм.

Фильтрат подвергается концентрированию в роторном испарителе HEIGOLPH (Германия) при температуре (45 ± 2) °С и (280 ± 5) об. /мин., а также давлении воздуха 4 кПа. Досушивание концентрата осуществляется в вакуум-эксикаторе при комнатной температуре и давлении в 10 кПа в течение 24 часов.

Полученный продукт представляет собой аморфную гелеобразную массу темно-зеленого цвета со специфическим тонким запахом, хорошо растворим в воде и спирте.

Опыт по лабораторному исследованию моллюскоцидных свойств препаратов Мыльнянки лекарственной (*S. officinalis*) провели в лаборатории мониторинга и прогнозирования паразитозов Всероссийского научно-

исследовательского института фундаментальной и прикладной паразитологии им. К.И. Скрябина (ВНИИП им. К.И. Скрябина), создавая при этом искусственные биотопы для моллюсков.

Культуру моллюсков, промежуточных хозяев гельминтозных инвазий, собирали в естественных биотопах Московской области. Моллюсков держали в кристаллизаторах объемом 3-5 л по 30 экз., пластиковых фото кюветах 30-50 л по 250 экз., аквариумах 60-80 л по 300 экз. с наличием глины, керамзита, отстоявшейся воды, полевых и водных растений. Грунт и растения были собраны с территории научно-испытательного отделения ВНИИП.

Для освещения биотопов в лаборатории использовали фито лампы типа Fluora, а для аэрации грунта и воды аквариумные компрессоры.

Жизнеспособность моллюсков выявили микроскопированием под бинокулярным микроскопом Levenhuk 3ST во время нагревания их на столике Морозова в течение 5-10 минут по двигательной активности. Исследования проводили через 3 месяца после изъятия всех компонентов из естественных условий.

В качестве контроля использовали 0,1 %-й отвар Мыльнянки.

Учет результатов и наблюдения проводили в течение 30 суток после воздействия препаратов. Эффективность применения моллюскоцида определяли по мере гибели моллюсков.

Порошок Мыльнянки в условиях лаборатории показал моллюскоцидное действие в отношении двух видов прудовиков, малого (*L. truncatula*) и болотного (*L. palustris*).

Обработку порошком культур моллюсков проводили рассеиванием вручную в дозе 10 г на площадь 1 м² биотопа. Начиная, с 17-х суток опыта по 30 –е сутки беспозвоночные погибали. Показатель жизнеспособности моллюсков к 30 дню опыта составил от 0 % до 3,3 % (рис. 19, табл. 14)



Рисунок 19. - Порошок из растения Мыльнянка лекарственная (оригинал)

Таблица 14. – Гибель моллюсков при воздействии порошка мыльнянки лекарственной (*S. officinalis*)

Показатели	Вид моллюсков	
	<i>L. truncatula</i>	<i>L. palustris</i>
Порошок – 10 г/м ²		
Количество жизнеспособных моллюсков:		
до воздействия порошка, экз.	117	121
после воздействия порошка, экз.	0	4
Процент жизнеспособных, %	0	3,3
Период гибели моллюсков под воздействием препарата, сутки	17-30	21-30
Контроль (0,1 %-й отвар 1 л/м ² – прототип)		
Всего моллюсков в опыте, экз.	110	138
Количество жизнеспособных моллюсков, экз.	108	138
Процент жизнеспособных, %	98,2	100
Период гибели моллюсков под воздействием препарата, сутки	27-30	-

В контроле выявлена единичная гибель на 27-30 сутки у малого прудовика. Болотный прудовик оказался устойчивым к отвару мыльнянки.

Спиртовой экстракт Мыльнянки в условиях лаборатории использовали в 0,01; 0,1; 1 и 10 %-ной концентрации (рис. 20, табл. 15).

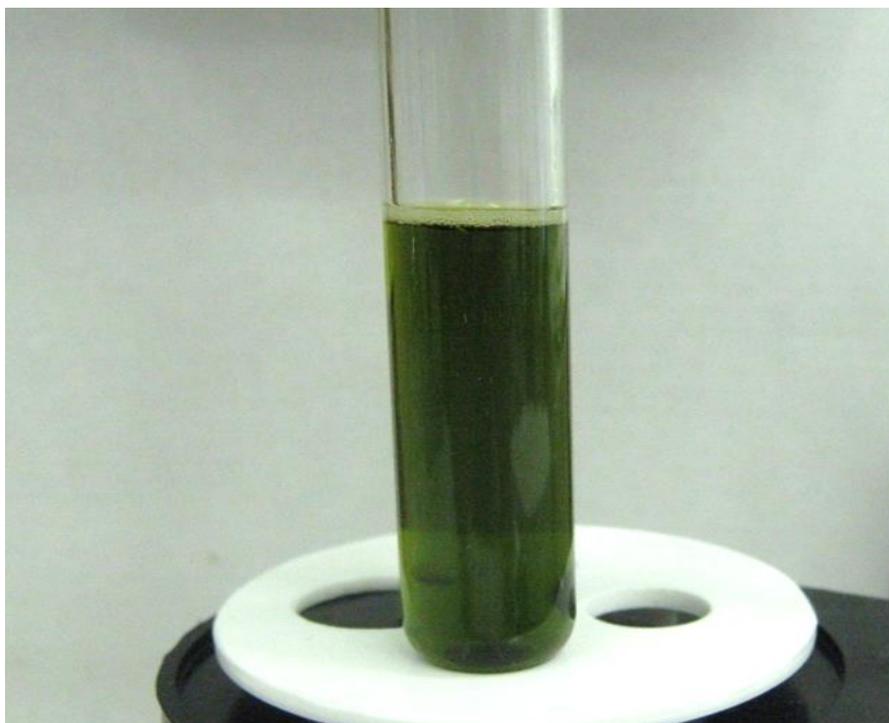


Рисунок 20. – Спиртовой экстракт из Мыльнянки лекарственной (оригинал)

Таблица 15. – Гибель моллюсков после воздействия рабочего (водного) раствора спиртового экстракта Мыльнянки лекарственной (*S. officinalis*)

Показатели	Вид моллюсков			
	<i>Lymnaea truncatula</i>	<i>Lymnaea palustris</i>	<i>Planorbis planorbis</i>	<i>Lymnaea stagnalis</i>
0,01 % раствор				
Количество жизнеспособных моллюсков:				
до воздействия экстракта, экз.	112	231	298	31
после воздействия экстракта, экз.	110	231	291	31
Процент жизнеспособных, %	98,2	100	97,6	100
Период гибели моллюсков под	28-30	-	24-30	-

воздействием препарата, сутки				
0,1 % раствор				
Количество жизнеспособных моллюсков: до воздействия экстракта, экз.	103	240	302	28
после воздействия экстракта, экз.	0	92	137	13
Процент жизнеспособных, %	0	38,3	45,4	46,4
Период гибели моллюсков под воздействием препарата, сутки	5-16	11-30	17-30	10-30
1 % раствор				
Количество жизнеспособных моллюсков: до воздействия экстракта, экз.	105	251	234	35
после воздействия экстракта, экз.	0	0	0	0
Процент жизнеспособных, %	0	0	0	0
Период гибели моллюсков под воздействием препарата, час	5-7	6-10	16-36	18-36
10 % раствор				
Количество жизнеспособных моллюсков: до воздействия экстракта, экз.	98	245	289	29
после воздействия экстракта, экз.	0	0	0	0
Процент жизнеспособных, %	0	0	0	0
Период гибели моллюсков под воздействием препарата, час	3-5	4-8	10-12	12-13
Контроль (0,1 %-й отвар 1 л/м ² - прототип)				
Всего моллюсков в опыте, экз.	81	207	241	33
Количество жизнеспособных моллюсков, экз.	75	205	238	31
Процент жизнеспособных, %	92,6	99,0	98,7	93,9
Период гибели моллюсков под воздействием препарата, сутки	20-30	23-30	25-30	29-30

Разведенный препарат рассеяли ручным распылителем Gridao объемом 1000 мл из расчета 100 мл на 1 м² площади искусственного биотопа. В аквариумах объемом 80 л с наличием болотной воды 50 л и культурами планорбид (*P. planorbis*) и обыкновенного прудовика (*L. stagnalis*) вносили препарат в таком же объеме.

Рабочий раствор препарата готовили из водопроводной воды с доведением его до нужной концентрации. 100 %-ный моллюскоцидный эффект оказали экстракты 1 и 10 %-ной концентрации. Гибель моллюсков наблюдалась в период от 3 до 36 часов. Раствор 0,1 % спиртового экстракта оказал 100 %-ный моллюскоцидный эффект у малого прудовика, гибель моллюсков отмечалась в период с 5 по 16 сутки.

Гибель от 53,6 до 61,7 % моллюсков (Болотного и Обыкновенного прудовиков, «Планорбидных» катушек) отмечена в период с 10 по 30 сутки.

Раствор с концентрацией спиртового экстракта 0,01 % практически не оказал моллюскоцидного действия. Единичная гибель моллюсков в течение месяца отмечена у малого прудовика и «планорбидных» катушек (*P. planorbis*). В контроле отмечена единичная гибель моллюсков с 20 по 30 сутки.

Проведение полевых исследований по изучению моллюскоцидного действия спиртового экстракта Мыльнянки обыкновенной (*S. officinalis*).

На территории «выгульных» пастбищ Московской, Рязанской и Брянской областей проводили испытания на моллюсках и других беспозвоночных в естественных биотопах.

В весенний период было выбрано два пастбища площадью 12 и 27 га, на которых были обнаружены и исследованы пять биотопов (площадью от 3 до 15 м²) с моллюсками.

На исследуемых территориях имеется застойная вода от талых вод, которая остается до июня-июля в виде луж и мочажин. В период весеннего половодья (март, апрель) в этих местах могут образовываться русла стоков воды глубиной не более 12 см. В мае-июне выбрали 5 биотопов из каждого места с населяющими моллюсками.

Плотность естественной посадки моллюсков на площадях биотопов с гидрологическим режимом от 11 до 48 м² отличалась: *L. truncatula* – от 9 до 54 экз./м², *L. palustris* – от 18 до 184 экз./м², *L. auricularia* – от 0 до 18 экз./м², *Physa fontinalis* – от 17 до 82 экз./м².

Обработку моллюскоцидным препаратом на основе спиртового экстракта проводили опрыскиванием с помощью аппарата «ЖУК» ОП-209 объемом расходного вещества 9 л из расчета 100 мл 1 %-го раствора на 1 м² биотопа.

Учет результатов исследования проводили на 7, 14 и 30 сутки опыта.

Моллюскоцидный эффект у малого и болотного прудовиков от аммиачного экстракта Мыльнянки показан в таблице 16.

Таблица 16. – Моллюскоцидный эффект рабочего раствора аммиачного экстракта Мыльнянки лекарственной (*S. officinalis*)

Концентрация рабочего (водного) раствора аммиачного экстракта Мыльнянки, %	Вид моллюсков			
	<i>L. truncatula</i>		<i>L. palustris</i>	
	Число моллюсков, числитель – погибших, знаменатель – общее число в опыте	время гибели моллюсков	Число моллюсков, числитель – погибших, знаменатель – общее число в опыте	время гибели моллюсков
0,01	3/107	18-30 сутки	0/238	-
0,1	19/97	23-30 сутки	14/252	21-30 сутки
1,0	102/102	4-8 часов	218/218	5-8 часов
Контроль (0,1 %-й отвар 1 л/м ² – прототип)				
0,1 %-й отвар Мыльнянки	4/98	28-30 сутки	1/182	30 сутки

Препарат вносили рассеиванием ручным распылителем Grida объемом 1000 мл в такой же дозе 100 мл рабочего раствора на 1 м² площади биотопа, что и спиртовой экстракт.

В условиях лаборатории 0,01 %-ный и 0,1 %-ный водные растворы аммиачного экстракта мыльнянки показал единичную гибель моллюсков от препарата в течение 18-30 суток исследования. 1,0 %-ный водный раствор показал высокую эффективность (100 %) при воздействии на моллюсках в течение 4-8 часов. Через 10-15 минут моллюски перестали активно двигаться, тело полностью погружалось в раковину. При микроскопировании тела моллюсков (увеличение $\times 4$, $\times 10$) отмечалось заметное выделение слизи (защитная реакция организма моллюска на контактное раздражение препарата). В контроле с 0,1 %-ным отваром мыльнянки лекарственной *S. officinalis* отмечена единичная гибель моллюсков с 28 по 30 сутки.

В результате поставленных экспериментов в естественных биотопах с моллюсками регистрировали только пустые раковины их в период учета результатов в количествах от 2 до 18 экз./м².

Таким образом, предлагаемый нами моллюскоцидный препарат экстракта Мыльнянки лекарственной, обеспечивает быструю, дешевую, экологически безопасную и эффективную борьбу с моллюсками – промежуточными хозяевами гельминтов животных.

Применение препарата целесообразно при обработке выпасных лугов, например, в Центральной России, в период активной деятельности моллюсков (период яйцекладок, развития и роста) – в мае-июне (после схода талых вод) и в августе-сентябре при температуре воды не ниже 13 °С и рН не выше 7,6 единиц.

Препараты Мыльнянки на пастбищных лугах в местах обитания моллюсков (лужи, заболоченные и прибрежные участки водоемов, противопожарные каналы, канавы, мочажины, ямы) вносит в форме рабочего раствора с помощью опрыскивателя (пульверизатора), а в форме порошка – вручную с наветренной стороны.

5. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование фасциолёзной инвазии на территории Центрального региона Российской Федерации, на примере Брянской области являющейся типичным районом развитого животноводства в регионе, показало, что циркуляция инвазии осуществляется несколькими видами животных (по данным копрологических исследований и послеубойной диагностики), преимущественно крупным рогатым скотом, овцами, и значительно реже, чем дикими животными. Высокий уровень экстенсивности инвазии крупного рогатого скота фасциолёзом отмечался в период 2014 г. – 37,5 %.

Принимая во внимание, высокую экстенсивность инвазии, а также то, что крупный рогатый скот в значимом количестве содержится на фермах совхозов и колхозов и в личных подсобных хозяйствах, можно предположить, что эти сельскохозяйственные животные в распространении фасциолёза являются основным звеном.

Экстенсивность инвазии фасциолёзом у мелкого рогатого скота оказалась наибольшей (10,9 %), но учитывая, тот факт, что на территории Брянской области за последние пять лет поголовье овец значительно уменьшилось. Роль этих животных в распространении фасциолёза снизилась.

Естественные хозяева фасциолёза в дикой природе – лоси, европейские косули, кабаны и европейские бобры, в процессе жизнедеятельности, могут использовать эти же территории сельскохозяйственных пастбищ, что и сельскохозяйственные животные, это ведёт к взаимообмену паразитарными заболеваниями, в том числе и трематодой *F. hepatica*. Таким образом, роль окончательных естественных хозяев диких копытных в распространении инвазии фасциолёза высока.

При изучении динамики заражения сельскохозяйственных животных *F. hepatica* за последние 5 лет установлено незначительное снижение экстенсивности инвазии крупного рогатого скота с 37,5 до 17,6 %, что, по нашему мнению, связано с переходом на круглогодичное стойловое содержание

основного количества поголовья жвачных и проведением плановых дегельминтизаций трематодоза.

С возрастом животных зараженность их фасциолами повышается за счет накопления инвазии и возможности повторного заражения в последующие годы.

Максимальная зараженность гельминтозом *F. hepatica* крупного рогатого скота отмечена у животных в возрасте старше 8 лет, у овец – 5 лет и старше. Основную роль в циркуляции фасциолёзной инвазии играют животные выше указанных возрастных групп.

При изучении влияния сезона года на зараженность продуктивных животных трематодой *F. hepatica* определено, что взрослое поголовье инвазировано фасциолами в течение всего года, с колебаниями от 9,0 % в июне и до 16,6 % в феврале у крупного рогатого скота, от 8,5 % в августе до 17,6 % в январе у овец.

Максимальная зараженность крупного рогатого скота и овец установлена зимой, что связано с достижением фасциолами новой генерации половозрелости.

Исследования биологических свойств у промежуточного хозяина, моллюска *L. truncatula*, *F. hepatica*, как выделенного из естественных мест обитания (биотопов), так и выращенного в условиях лаборатории, показало, что:

- моллюски в количественном отношении распределены в разных водоемах неодинаково, это связано с разными экологическими факторами. Но наиболее часто моллюски вида *L. truncatula* и с большей плотностью заселяют и встречаются на увлажненных пойменных участках пастбищ (лужи, мочажины, небольшие водоёмы) большинство из которых в летние месяцы высыхают;

- малый прудовик – *L. truncatula* инвазирован личинками фасциол в меньшем количестве весной (1,3 %). В течение летних месяцев инвазия нарастает и достигает максимума от 2,6 до 8,0 % в осенний период.

Локализация малого прудовика в местах водопоя может оказать решающее влияние на инвазию основного хозяина;

- наибольший процент инвазированных моллюсков в двух возрастных группах – 1 и 5 суток. ЭИ прудовиков возбудителем фасциолёза при

экспериментальном заражении составила 93,3 %. Несколько менее инвазированными (90,0 %) промежуточные хозяева в возрасте от 1 до 4 недель. Зараженность личинками трематоды 8 и 16-недельных прудовиков составила 80,0 % и 43,3 %, соответственно. Взрослые прудовики (возраст 36 недель) невосприимчивы к возбудителю фасциолёза. Восприимчивый возраст малого прудовика к паразиту – от дней до 8 недель;

- срок выхода первых церкариев из моллюсков в разных возрастных группах моллюсков составляет 34...38 суток. Окончание выхода церкариев из моллюсков наблюдали с 64-х по 80-е сутки опыта;

- следует рекомендовать проведение профилактических мероприятий против промежуточного хозяина фасциолы *F. hepatica* моллюсков в возрасте 2-16 недель, которые появляются в весенне-летний (май-июнь) и летне-осенний (август-сентябрь) пастбищные периоды.

При получении инвазионного материала, от паразитических трематод, в лабораторных условиях, используемого при оценке разрабатываемых средств дезинвазии, также для упрощения контроля развития партенитных стадий у возбудителя *F. hepatica* следует применить современные климато-технические комплексы с искусственно устанавливаемыми и контролируруемыми параметрами микроклимата (температура, влажность, освещенность, рН среды, наличие кислорода и др.).

Этого достаточно для получения полноценной инвазионной культуры возбудителя фасциолёза, которая может быть использована в прикладных разработках современных, моллюскоцидных препаратов для воздействия на биотоп возбудителя и средств лечения и дезинвазии на возбудителя.

Выбор лабораторных биологических моделей (кролики, белые крысы и т.д.) для возможности воспроизведения фасциолёзной инвазии с особенностями и характерными признаками данного заболевания, независимо от сезона года и в условиях лаборатории, и их способность для решения в контролируемых условиях многочисленных задач по биологии возбудителя, воздействие возбудителя на макроорганизм (в плане изменений биохимических,

гематологических, иммунологических показателей и т.д.), диагностики, профилактики и лечения инвазии более оправдан и оптимален.

Анализ литературных и собственных данных свидетельствуют о том, что одним из направлений борьбы с фасциолёзной инвазией является целенаправленное воздействие на элементы биологического цикла развития возбудителя.

Воздействие на популяцию промежуточного хозяина возбудителя фасциолёза *F. hepatica* моллюска – малого прудовика *L. truncatula* за счет санации естественных биотопов с применением эффективных моллюскоцидных средств является ведущим способом борьбы с этой инвазией, экологически «безвредным» для сложившегося в биотопе биогеоценоза.

Препараты синтетического ряда также являются эффективными в числе моллюскоцидного действия, но применение их на больших площадях не только дорого, но и не исключает возможность экологических проблем безопасности для сложившегося биогеоценоза и сельскохозяйственных животных из-за своей высокой токсичности, и возможности кумуляции в организме.

В этом аспекте поиск моллюскоцидных веществ из числа природных соединений в растительном сырье является важным и оправданным направлением исследования.

С целью расширения ареала растительных моллюскоцидных препаратов и расширения сырьевой базы рекомендуется использовать препараты из корней, стеблей, листьев, цветов и плодов Мыльнянки лекарственной (*S. officinalis*), распространенной повсеместно. Препараты Мыльнянки, содержат в себе поверхностно активные вещества (ПАВ) и тритерпеновые сапонины, обладающие моллюскоцидными свойствами.

Порошок мыльнянки в условиях лаборатории показал моллюскоцидное действие в отношении двух видов прудовиков, малого (*L. truncatula*) и болотного (*L. palustris*). Обработку порошком культур моллюсков провели рассеиванием вручную в дозе 10 г на площадь 1 м² биотопа. Начиная, с 17-х суток опыта по 30 моллюски погибали. Показатель жизнеспособности моллюсков к 30 дню опыта

составил от 0 % до 3,3 %. Болотный прудовик оказался устойчивым к отвару мыльнянки.

Спиртовой экстракт мыльнянки в условиях лаборатории использовали в 0,01; 0,1; 1 и 10 %-ной концентрации из расчета 100 мл на 1 м² площади искусственного биотопа. 100 %-ный моллюскоцидный эффект оказали экстракты 1 и 10%-ной концентрации. Гибель беспозвоночных отмечалась в период от 3 до 36 часов. 0,1 % раствор спиртового экстракта оказал 100%-ный моллюскоцидный эффект у малого прудовика, гибель беспозвоночных отмечалась в период с 5 по 16 сутки.

Водный 1,0 %-ный раствор при обработке на пастбище биотопов показал высокую эффективность (100 %) при воздействии на моллюсков в течение 4-8 часов. Через 10-15 минут моллюски перестали активно двигаться. Тело полностью погружалось в раковину.

Предлагаемый моллюскоцидный препарат экстракта Мыльнянки лекарственной, обеспечивает быструю, дешевую, экологически безопасную и эффективную борьбу с моллюсками – промежуточными хозяевами гельминтов животных на всех стадиях их развития.

6. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ статистических данных ветеринарной службы и полученные нами данные показывают, что возбудитель фасциолёзной инвазии регулярно выявляется у крупного рогатого скота в Центральном регионе России. Собственные результаты исследования животных показывают, что по результатам убоя крупного рогатого скота ЭИ составляет 2,7-37,5 %, то есть в 4-18 раз больше чем в отчетности ветеринарной службы.

Результаты данных ветеринарно-санитарной отчетности и проведенных исследований показывают, что фасциолёз как у крупного рогатого скота, так и овец регистрируют в течение всего года. Экстенсивность инвазии у крупного рогатого скота колеблется от 9,0 % в летний период и до 16,6 % в зимний период. У овец зараженность фасциолами колебалась от 8,5 % летом и до 17,6 % в зимний сезон. Наибольшую роль в циркуляции фасциолёзной инвазии играют крупный рогатый скот старше 8 лет и овцы старше 4 лет, которые инвазированы в максимальной степени.

Исследования биологических аспектов у промежуточного хозяина, моллюска *L. truncatula*, показывают, что:

- наиболее часто моллюски вида *L. truncatula* и с большей плотностью заселяют и встречаются в слабо увлажненных и заболоченных пойменных участках пастбищ, большинство из которых в летние месяцы высыхают;

- прудовики *L. truncatula* заражены личинками фасциол в меньшем количестве весной (1,3 %). В течение летних месяцев инвазия нарастает и достигает максимума от 2,6 до 8,0 % в осенний период. В это же время наибольшая зараженность малого прудовика личинками возбудителя *F. hepatica*, максимально способствует инвазированию дефинитивного хозяина;

- наибольший процент инвазированных моллюсков в двух возрастных группах – 1 и 5 суток. ЭИ прудовиков возбудителем фасциолёза при экспериментальном заражении составляет 93,3 %. Несколько менее инвазированными (90,0 %) промежуточные хозяева фасциолёза в возрасте от 1 до

4 недель. Зараженность личинками трематоды 8 и 16-недельных прудовиков составляет 80,0 % и 43,3 %, соответственно. Взрослые прудовики (возраст 36 недель) невосприимчивы к возбудителю фасциолёза;

- срок выхода первых церкариев из моллюсков у разных возрастных групп прудовиков составляет 34...38 суток. Окончание выхода церкариев из беспозвоночных наблюдали с 64-х по 80-е сутки опыта.

В прикладных разработках современных моллюскоцидных препаратов для оценки воздействия на биотоп возбудителя фасциолёза и средств дезинвазии от данного возбудителя, рекомендуется применять современные климатотехнические комплексы с искусственно устанавливаемыми и контролируемые параметрами (температура, влажность, освещенность, рН среды, наличие кислорода и др.) микроклимата.

В аспекте моделирования фасциолёзной инвазии обоснованный выбор лабораторных животных (кролики, белая крыса и других), их способность решения в контролируемых условиях многочисленных задач биологии возбудителя, воздействие инвазионного агента на макроорганизм (в плане изменений биохимических, гематологических, иммунологических показателей и т.д.), диагностики, профилактики и лечения инвазии оправдан и оптимален.

Предлагаемые препараты на основе корней, стеблей, листьев, цветов и плодов Мыльнянки лекарственной (*S. officinalis*) обладают эффективными моллюскоцидными свойствами. Водные растворы экстрактов (спиртовых и аммиачных) Мыльнянки лекарственной оказывают 100 %-ный моллюскоцидный эффект.

7. ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

В связи со сложившейся ситуацией по фасциолёзу в Центральном регионе России, а также учитывая многочисленные сообщения, касающиеся регистрации фасциолёза у домашних и диких животных, в целях повышения уровня профилактических мероприятий мы, основываясь на полученных результатах собственных экспериментальных исследований, считаем необходимым рекомендовать:

Для изучения современной ситуации по фасциолёзу в Центральном регионе России следует проводить регулярные мониторинговые исследования по данной инвазии общепринятыми методами среди различных видов животных.

В прикладных разработках современных моллюскоцидных препаратов для оценки воздействия на биотоп возбудителя фасциолёза и средств дезинвазии от данного возбудителя, рекомендуем применять современные климато-технические комплексы с искусственно устанавливаемыми и контролируруемыми параметрами (температура, влажность, освещенность, рН среды, наличие кислорода и др.) микроклимата.

Для решения в контролируемых условиях многочисленных задач биологии возбудителя, воздействие инвазионного агента на макроорганизм (в плане изменений биохимических, гематологических, иммунологических показателей и т.д.), диагностики, профилактики и лечения инвазии, использовать в аспекте моделирования фасциолёзной инвазии лабораторных животных (кролики, белая крыса и других), их выбор оправдан и оптимален.

Применять препараты (порошок – 10 г/м² и 1 % водный раствор спиртового экстракта – 0,1 л/м²) на основе корней, стеблей, листьев, цветов и плодов мыльнянки лекарственной (*S. officinalis*) для проведения профилактических мероприятий против промежуточного хозяина – моллюсков *F. hepatica* в возрасте 2-16 недель, которые появляются в весенне-летний (май-июнь) и летне-осенний

(август-сентябрь) пастбищные периоды. Препараты на основе мыльнянки лекарственной оказывают 100 %-ный моллюскоцидный эффект через 5-36 часов.

Разработанные нами мероприятия вошли в следующие нормативные документы:

Модифицированная методика содержания моллюсков *Lymnaea truncatula* с целью получения адолескариев возбудителя фасциолеза *Fasciola hepatica* (рассмотрены и одобрены секцией «Инвазионные болезни» в ВНИИП протокол № 3 от 22.09.2017 г.).

Патент № 2637856 на изобретение «Моллюскоцидное средство для борьбы с возбудителями гельминтозов и способ его получения». Зарегистрирован в Государственном реестре изобретений // Бюл. № 34 от 07.12.2017 г.

8. СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

Основные термины, определения и сокращения

Яйцо – *ovum* – оплодотворенная яйцеклетка, несущая в себе генетическую информацию будущего организма, запас питательных веществ или уже сформированный зародыш, заключенный в оболочке яйца [132].

Мирацидий – первая личиночная форма в виде ланцета, постепенно сужающегося к хвостовому концу, тело покрыто ресничками [46].

Спороциста – вторая личиночная форма фасциол в виде мешкообразного, округлого или вытянутого образования, развивающаяся из мирацидия [46].

Редия – третья личиночная форма, которая развивается в спороцисте, выходит из нее на определенный день своего развития и дает начало дочерним редиям или церкариям [46].

Церкарий – четвертая личиночная форма фасциол, самостоятельно живущая в воде, развивается из редий [46].

Адолескарий – инцистированный церкарий, неподвижная личиночная форма, завершающая развитие фасциолы во внешней среде [46].

Биотоп – участок среды обитания растительных и животных организмов, характеризующийся однородными условиями существования [132].

Моллюскоциды – (лат. *Mollusca* – моллюски и *caedo* – убиваю) – химические вещества уничтожение моллюсков – промежуточных хозяев гельминтов человека, животных и вредителей растений [31].

Биоценоз – исторически сложившаяся совокупность животных, растений, грибов и микроорганизмов, населяющих относительно однородное жизненное пространство (определенный участок суши или акватории), и связанных между собой окружающей их средой [132].

Биогеоценоз – система, включающая сообщество живых организмов и тесно связанную с ними совокупность абиотических факторов среды в пределах одной территории, связанные между собой круговоротом веществ и потоком энергии (природная экосистема) [132].

ИИ – интенсивность инвазии – степень заражения хозяина тем или иным гельминтом, выраженная в количественных величинах [132].

ЭИ – экстенсивность инвазии – процент зараженных гельминтами животных определенного вида от общего их количества в стаде, отаре, хозяйстве и т.д. [132].

9. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллаев Х.С. Паразитофауна, эпизоотологические особенности фасциолеза у крупного рогатого скота в Центральном районе Нечерноземья РФ. Изыскание средств дегельминтизации животных при фасциолезе: автореф. дисс... канд. вет. наук: 03.00.19 / Х.С. Абдуллаев. – Иваново. – 1995. – 21 с.
2. Абдуллаев Х.С. Особенности эпизоотологии фасциолеза крупного рогатого скота в хозяйствах Ивановской области / Х.С. Абдуллаев, Б.Г. Абалихин // Тез. докл. научно-практич. конф. – Иваново. – 1995. – 220 с.
3. Азимов Ш.А. Особенности эпизоотологии фасциолеза животных и меры борьбы с ним в Узбекистане / Ш.А. Азимов, Б.С. Салимов // Материалы научн. конф. по фасциолезу. Великие Луки. – М. – 1977. – С.1-3
4. Азимов Ш.А. Фасциолез крупного рогатого скота в Ташкентской, Сырдарьинской и Джизакской областях / Ш.А. Азимов, Т.Ц. Катайцева, М.Б. Батаева // Тез. докл. научн. конф. 4-6 апреля 1989 г. – М. – 1989. – Т. 1. – 6 с.
5. Алиев М.С. Эпизоотологические факторы фасциолеза / М.С. Алиев // Ветеринария. – 1981. – № 7. – 40-41 с.
6. Арисов М.В. Распространение трематодозов крупного рогатого скота и меры борьбы на территории Нижегородской области / М.В. Арисов // Труды Всероссийского ин-та гельминтологии им. К.И. Скрябина. – М., 2006. – Т. С. 42. – 45.
7. Архипов И.А. Яйцепродукция *Fasciola hepatica* КРС / И.А. Архипов, Е.Е. Коляда // Материалы межрегиональной, научно-практической конференции. «Паразитология – приоритеты и перспективы развития» Новосибирск. – 2002. – С. 9-10.
8. Асадов С.М. Гельминтофауна жвачных животных СССР и ее эколого-географический анализ/ С.М. Асадов // Баку: Изд-во АН Азерб. ССР. – 1960. – 511 с.
9. Астафьев Б.А. Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине / Б.А. Астафьев, Л.С. Яроцкий, М.Н. Лебедева // Наука. – 1989. – 279 с.

10. Атаев А.М. Распространение и динамика фасциолеза крупного рогатого скота в равнинной зоне Дагестана / А.М. Атаев, Т.Х. Адильханова, М.С. Канаев // Сборник научных трудов Дагестанского научно-исследовательского ветеринарного института, Махачкала. – 1984. – В. 16. – С.40-51.

11. Атаев А.М. Эколого-эпизоотологический анализ фасциолеза животных и совершенствование мер борьбы с ним в юго-восточном регионе северного Кавказа: дисс... докт. вет. наук: 03.00.20 / А.М. Атаев. – М. – 1990. – С. 93-103.

12. Ахмедрабаданов Х.А. Динамика распространения моллюсков – промежуточных хозяев фасциол в условиях Дагестана / Х.А. Ахмедрабаданов, А.М. Атаев // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – М., 2007. – Вып. 8. – С. 20-21.

13. Бакулов И.С. География болезней животных зарубежных стран / И.С. Бакулов, М.Г. Таршис – Москва. – Колос. – 1971. – 300 с.

14. Барабанов Е. И. Ботаника: учебник для студ. высш. учеб. Заведений / Е. И. Барабанов – М. – Издат. центр «Академия». – 2006. – 448 с.

15. Баягин В.Н. Антигельминтная эффективность рафоксанида при фасциолеза овец и крупного рогатого скота / В.Н. Баягин // Бюлл. Всесоюз. института гельминтологии имени К.И. Скрябина. – М. – 1976. –В. 17. –С. 19-20.

16. Биттиров А.М. Гельминтологические комплексы в природных биоценозах Кабардино-Балкарской Республики / А.М. Биттиров, М.Х. Соттаев, Б.М. Шипшев // Тез. докл. науч.-произв. конф. Горского гос. агроуниверситета. – 1995. – С. 150-152.

17. Биттиров А.М. Анализ экологической безопасности противопаразитарных препаратов / А.М. Биттиров, Б.М. Шипшев, М.И. Аккиев // Вестник ветеринарии. – Ставрополь, 1996. – № 2. – С. 90-92.

18. Биттиров А.М. Формирование биотопов *Fasciola hepatica* на выпасах и скотопрогонных трассах КБР / А. М. Биттиров // Сб. работ КБГСХА. Нальчик. – 2004. – С. 27-30.

19. Боев С.Н. Зоогеографическое районирование - основа перспективного плана борьбы с гельминтозами / С.Н. Боев // Паразиты сельскохозяйственных

животных: Сб. статей АН КазССР. – Алма-Ата. – 1962. – С. 102-121.

20. Бочарова М.М. Эколого-популяционный анализ трематод *Dicrocoelium lanceatum* Stiles et Hassal, 1896, *Fasciola hepatica* L., 1758 и их хозяев в условиях северных склонов Центрального Кавказа и Восточного Предкавказья: дис...докт. биол. наук: 03.00.19 / М.М. Бочарова – 1996. – 546 с.

21. Васильев И. Н. К методике содержания моллюсков *Galba truncatula* в лабораторных условиях с целью получения и сбора адолескариев *Fasciola hepatica* / И. Н. Васильев // Сборник научно-технической информации ВИНИС. – 1961. – № 7-8.

22. Васильева В.А. Гельминтофауна животных Мордовского региона / В.А. Васильева, Л.А. Небайкина // Матер. докл. научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2002. – Вып. 3. – С.76-77.

23. Васильева И.Н. О промежуточном хозяине *Fasciola hepatica* L., 1758 / И.Н. Васильева // Уч. зап. Моск. обл. пед. ин-та. 1963. – Т. 126, вып. 6. – С. 323-329.

24. Веденеева И.Н. Гематологические и биохимические показатели организма животных при гельминтозах / И.Н. Веденеева // Российский паразитологический журнал. – 2007. – №3. – С. 44-46.

25. Волкова З.В. Эпизоотология фасциолеза овец в Московской области: дис...канд. вет. наук: 03.00.20 / З.В. Волкова. – Москва. – ВИГИС. – 1954. – 156 с.

26. Гаджиев Я.Г. Распространение фасциолеза в зависимости от категории хозяйств / Я.Г. Гаджиев // Исследования по гельминтологии в Азербайджане: Мат-лы научной конференции, Баку. – 1984. – С. 23-24.

27. Гареев К.А. Возрастная динамика фасциолеза крупного рогатого скота на Южном Урале / К.А. Гареев, Р.Г. Фазлаев // Матер. докл. научн. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2002. – Вып. 3. – С. 89-91.

28. Гинецинская Т.А. Трематоды – их жизненные циклы, биология и эволюция / Т.А. Гинецинская – Л. Наука. – 1968. – 411с.

29. Горохов В.В. Культивирование моллюсков *Galba truncatula* в лаборатории / В.В. Горохов // Материалы научной конференции ВОГ. – Ч.1. – Москва. – 1963. – 78 с.
30. Горохов В.В. Эпизоотический процесс при фасциолезе / В.В. Горохов // Ветеринария. – 1986. – № 6. – С. 38-43.
31. Горохов В.В. Моллюскоциды и их применение в сельском хозяйстве / В.В. Горохов, В.С. Осетров – Москва. – Колос. – 1987. – 224 с.
32. Горохов В.В. Эволюционный прогресс трематод / В.В. Горохов // Матер. докл. научн. конф. «Актуальные вопросы теоретической и прикладной трематодологии и цестодологии». – Москва. – 1997. – С. 41-43.
33. Горохов В.В. Фасциолез – как сложная экологическая проблема / В.В. Горохов, Н.П. Сорокина // Матер. докл. научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2002. – Вып. 3. – С. 97-100.
34. Горохов В.В. Энизоотическая ситуация по основным гельминтозам в РФ / В.В. Горохов, В.Н. Скира, И.Ф. Кленова и др. // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2011. – Вып. 9. – С. 85-88.
35. Горохов В.В. Современная эпизоотическая ситуация по основным гельминтозам сельскохозяйственных животных в России / В.В. Горохов, В.Н. Скира, Н.Ф. Кленова, А.Н. Воличев, Р.А. Пешков, А.Н. Постевой // Матер. докл. науч. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». Москва. – 2013. – Вып. 14. – С. 123-129.
36. Горохов В.В. Прогноз эпизоотической ситуации по основным гельминтозам сельскохозяйственных животных в России на 2016 год / В.В. Горохов, Н.А. Самойловская // Российский паразитологический журнал. – Москва. – 2016. – Т. 35. – Вып. 1. – С. 38-40.
37. Горохов В.В. Сложность мониторинга при фасциолезе (*Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*) и некоторых других видах трематод / В.В. Горохов, Н.А. Самойловская, Р.А. Пешков, О.Н. Андреянов, Е.В. Пузанова, Р.Н. Подолько,

А.Н. Постевой // Теория и практика паразитарных болезней животных. Материалы научной конференции. Москва. – 2016. – Вып. 17. – С. 146-148.

38. Горохов В.В. О пропативном расселении фасциолами других трематод / В.В. Горохов, Е.В. Пузанова // Теория и практика паразитарных болезней животных: Материалы научной конференции. Москва. – 2017. – Вып. 18. – С. 120-121.

39. Горохов В.В. Распространение фасциолёза крупного рогатого скота в России по статистическим данным в период 2012-2016 годов / В.В. Горохов, И.Ф. Кленова, Е.В. Пузанова // Теория и практика паразитарных болезней животных. Москва. – 2018. – №19. – С.142-145

40. Горчаков В.В. Средство для уничтожения моллюсков. Патент RU2141204, А01 N 65/00, А01 К 61/00, 1999.

41. Горчаков В.В. Растительное средство для борьбы с пресноводными моллюсками. Патент RU 2148319, А01N65/00, 2000.

42. Горчаков В.В., Горчакова Н. В., Изотова З.П. Растительное средство для борьбы с пресноводными моллюсками. Патент RU 2239321, А01N65/00, 2004.

43. Давтян Э.А. О патогенности различных видов фасциол и о ее изменчивости в зависимости от условий развития партеногенетических стадий / Э.А. Давтян // Зоол. журн. 1956. – Т. 35, вып. 11. – С. 1617-1625.

44. Даников Н. И. Целебные ядовитые растения / Н. И. Даников – Москва. – РИПОЛ классик. – 2005. – С. 319-323.

45. Демидов Н.В. Фасциолезы сельскохозяйственных животных: автореф дис...докт. вет. наук: 03.00.20 / Н.В. Демидов. – Москва. – 1963. – 42 с.

46. Демидов Н.В. Фасциолез животных / Н.В. Демидов – Москва. – Колос. – 1965. – 207 с.

47. Досжанова Г.Б. Эффективность новых форм комплексного препарата альбен при фасциолёзе крупного рогатого скота / Г.Б. Досжанова // Матер. докл. научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2003. – Вып. 4. – С. 144-146.

48. Дурдусов С.Д. Паразитарные болезни жвачных аридной зоны юга России / С.Д. Дурдусов, Г.М. Лазарев – Элиста. – 1999. – 320 с.

49. Душкин В.А. Опыт профилактики и борьбы с фасциолезом животных в хозяйствах Горьковской области // Тез. докл. Всес. конф. «Методы профилактики и борьбы с фасциолезом и другими трематодозами жвачных в обводняемых и осушаемых зонах СССР». – Великие Луки, 1977. – С. 37-39.

50. Еремеева О.Р. Динамика микропаразитоценозов в организме крупного рогатого скота при микстинвазиях / О.Р. Еремеева, А.Ю. Гудкова, М.В. Курочкина и др. // Матер. докл. научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2002. – Вып. 3. – С. 124-126.

51. Ерхан Д.К. Распространение моно и микстинвазий фасциолеза и саркоцистоза у крупного рогатого скота в Молдавии / Д.К. Ерхан, И.З. Костравец, Н.Я. Мошу // Мат-лы X конференции Украинского общества паразитологов. – Киев: Наукова думка. – 1986. – С. 199-201.

52. Ершов В.С. Работа 57 СГЭ в Вятской губернии / В.С. Ершов – Вятка: Изд-во Вят. окр. вет. отд. Окр. ЗУ. – 1929. – С. 1-77.

53. Жадин В. И. Исследования по биологии моллюсков - передатчиков фасциолеза и выработка мер борьбы с ними / В. И. Жадин, В. Я. Панкратова. – Работы Окск. биол. ст.. – т. VI. – 1931.

54. Западнюк И.П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. 3-е издание переработанное и дополненное / И.П. Западнюк, В.И. Западнюк, Е.А. Захария, Б.В. Западнюк – Киев: Вища школа. Головное издательство. – 1983. – 383 с.

55. Здун В.И. Личинки трематод в пресноводных моллюсках Украины / В.И. Здун – Киев: Вид-во АН УРСР. – 1961. – 141 с.

56. Ивашкин В.М. Методы сбора и изучения гельминтов наземных млекопитающих / В.М. Ивашкин, В.Н. Контримавичус, Н.С. Назарова – Москва. – Наука. – 1971. – 123 с.

57. Иргашев И.Х. Гельминтофауна крупного рогатого скота на юге Узбекистана / И.Х. Иргашев и др. // Тез. докл. 32 научн. конф. Самарканд, с/х ин-

та им. Куйбышева. – 1972. – С. 45-47.

58. Кажаров А.З. Гематологические и биохимические показатели коров при фасциолезной инвазии / А.З. Кажаров, И.К. Шакбиев, И.К. Берсанукаева, К.К. Шакбиев, С.С. Мантаева, Ф.И. Кишტიкова, А.М. Биттиров // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2013 г. – №2. С. 124-125.

59. Казанников В.А. Пресноводные моллюски северных склонов Центрального Кавказа и Восточного Пред кавказья (бассейн реки Терек): автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.08. / В.А. Казанников. – Л. – 1973. – 20 с.

60. Кармалиев Р.С. Гельминтозы крупного рогатого скота Западного Казахстана и меры борьбы с ними (эпизоотология, терапия, резистентность к антигельминтикам): автореф. дис... докт. вет. наук: 03.02.11 / Р.С. Кармалиев. – 2011. – 51с.

61. Карелин С.Т. К вопросу о прогнозировании фасциолеза крупного рогатого скота / С.Т. Карелин, О.М. Швец // Тезисы докладов Международной конференции, посвященной 80-летию МВА им. К.И. Скрябина. — М.: МВА им. К.И. Скрябина. – 1999. – С. 276-277.

62. Касымбеков Б.К. Основные гельминтозы жвачных животных в Киргизии и меры борьбы с ними: автореф. дис... докт. вет. наук: 03.00.20 / Б.К. Касымбеков. – М. – 1990. – 47 с.

63. Кожабаев М.К. Ассоциативная инвазия трематодами крупного рогатого скота Приаралья: автореф. дис... канд. вет. наук: 03.00.19 / М.К. Кожабаев. – 2001. – 25 с.

64. Коляда Е.Е. Плотность популяции отдельных видов трематод при моно- и смешанной инвазии крупного рогатого скота в Нижегородской области / Е.Е. Коляда, И.А. Архипов, Н.И. Кошеваров, В.А. Душкин // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – 2002. – С. 167-169.

65. Коляда Е.Е. Эпизоотология и терапия фасциолеза и дикроцелиоза крупного рогатого скота в Среднем Поволжье: автореф. дис... канд. вет. наук: 03.00.19 / Е.Е. Коляда. – М., 2004. – 25 с.

66. Котельников Г.А. Опыт работы по оздоровлению жвачных от фасциолеза в Кирилловском районе Вологодской области / Г.А. Котельников, В.К. Косухин // Тез. докл. научн. конф. Всес. о-ва гельминтол., посвящ. 40 годовщ. Вел. Окт. соц. рев. – 1957. – Ч. 1. – С. 153-154.

67. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды / Г.А. Котельников – Справочник. – Москва. – Колос. – 1984. – 208 с.

68. Котельников Г.А. Гельминтологические исследования окружающей среды / Г.А. Котельников – Москва. – Агропром издат. – 1991. – 144 с.

69. Кошеваров Н.И. Эколого-эпизоотические особенности трематодозов животных в Нечерноземье РФ и влияние антигельминтиков в системе «паразит-хозяин»: автореф. дис... докт. вет. наук: 03.02.11 / Н.И. Кошеваров. – Москва. – 2011. – 49с.

70. Кротенков В.П. Мониторинг эпизоотической ситуации по фасциолезу в Смоленской области за 2005-2010 гг. / В.П. Кротенков, С.Н. Буренков, Ю.О. Кушнир // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2010. – Вып. 11. – С. 248-249.

71. Круглов Н.Д. Моллюски семейства прудовиков (*Lymnaeidae Gastropoda Pulmonata*) Европы и Северной Азии (Особенности экологии и паразитологическое значение) / Н.Д. Круглов // Смоленск. – 2005. – Изд-во СГПУ. – 508 с.

72. Кряжев А.Л. Об эколого-эпизоотической ситуации распространения фасциолеза и парамфистомоза крупного рогатого скота в Вологодской области / А.Л. Кряжев, С.А. Бирюков, П.А. Лемехов // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2010. – Вып. 11. – С. 252-254.

73. Кузьмичев В.В. Фасциолез животных в Центральном районе Черноземья: автореф. дис...докт. вет. наук: 03.02.19 / В.В. Кузьмичев. – Москва. – 1997. – 42 с.

74. Кузьмичев В.В. Фасциолез овец и крупного рогатого скота в Нечерноземной зоне России: дис...докт. вет. наук: 03.02.19 / В.В. Кузьмичев – 1997. – 247 с.

75. Кузьмович Л.Г. Ландшафтное размещение биотопов пастбищных трематод и их промежуточных хозяев – моллюсков на западе УССР / Л.Г. Кузьмович // Тез. докл. 1X съезда Всес. о-ва гельминтол. – Москва. – 1986. – С. 84-85.

76. Лошкарева В.В. Распространение трематодозов крупного рогатого скота в условиях среднего Предуралья / В.В. Лошкарева, И.А. Архипов // Матер. докл. научн. конф. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2003. – Вып. 4. – С. 235-237.

77. Лошкарева В.В. К эпизоотологии трематодозов крупного рогатого скота в условиях Среднего Предуралья / В.В. Лошкарева // Матер. Междунар. науч.-практ. конф. «Современные проблемы иммуногенеза, теории и практики борьбы с паразитарными и инфекционными болезнями сельскохозяйственных животных». – Уфа, 2004. – С. 175-176.

78. Мамедов М.С. Сравнительная эффективность некоторых препаратов при спонтанном фасциолезе овец / М.С. Мамедов, В.В. Крайнева, Л.В. Смирнова // Тез. докл. научн. конф. «Меры профилактики и борьбы с трематодозами». – Сумы. – 1991. – С. 73-74.

79. Марченко В.А. Эпизоотическая ситуация по фасциолезу крупного рогатого скота в Республике Алтай / В.А. Марченко, Е.А. Васильева // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2007. – Вып. 8. – С. 207-209.

80. Мачинский А.П. Распространение фасциолеза и дикроцелиоза в Мордовии / А.П. Мачинский, И.Ф. Марков // Тез. докл. Всес. конф. «Методы профилактики и борьбы с фасциолезом и другими трематодозами жвачных в

обводняемых и осушаемых зонах СССР» Великие Луки, 21-23 июня 1977. – 1977. – С. 59-60.

81. Мовсесян С.О. Экологические основы профилактики трематодозов животных / С.О.Мовсесян, Ф.А. Чубарян // Ветеринария. – 1991. – № 12. – С. 30-31.

82. Невоструева Л.С. К биологии *Hypoderaeum conoideum* / Л.С. Невоструева // Тр. ин-та Горьк. с.х. ин-т. – 1959. – Т. 8. – С. 150-153.

83. Нуральдин Чалаби Кхдер Ниязи Эколого-биологические особенности фасциолёза животных в Ираке: дис. ...канд. биол. наук: 03.02.11 /Чалаби Кхдер Ниязи Нуральдин. – Курск. – 2011. – 134 с.

84. Онуфриенко М.Э. Сезонная динамика фасциолеза крупного рогатого скота в хозяйствах Ленинградской области / М.Э. Онуфриенко //Матер. докл. научн. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2003. – Вып. 4. – С. 300-303.

85. Онуфриенко М.Э. Фасциолез крупного рогатого скота в Северо-Западном регионе России: автореф. дис...докт. вет. наук: 03.02.19 / М.Э. Онуфриенко. – Спб. – 2004. – 36 с.

86. Памятурене Д.А. Оптимизация сроков дегельминтизаций при фасциолезе жвачных и выявление наиболее перспективных фасциолоцидов: автореф. дис...канд. вет. наук: 03.00.20 / Д.А. Памятурене. – 1989. – 22 с.

87. Панасюк Д.И. Распространение фасциолеза жвачных в Нечерноземной зоне РСФСР / Д.И. Панасюк, В.И. Фетисов // Тез. докл. Всес. конф. «Методы профилактики и борьбы с трематодозами жвачных в обводняемых и осушаемых зонах СССР». – Великие Луки. – 1977. – С. 73-74.

88. Панова Л.Г. Фасциолез сельскохозяйственных животных / Л.Г. Панова – Москва. – Сельхозгиз. – 1951. – 107 с.

89. Паустов В.М. Морфология крови при фасциолезе коров / В.М. Паустов // Физиология. – 2003. – №1. – С. 63-68.

90. Пельгунов А.Н. Гельминтофаунистический комплекс диких копытных в биоценозах, загрязненных радионуклидами / А.Н. Пельгунов // Рос. паразитол. журнал. – 2010. – № 2. – С. 11-15.

91. Петков А. Распространение и сезонная динамика фасциолеза / А. Петков

и др. // Ветер сб. – 1977. – № 5. – С. 34-36.

92. Петков А. Эпизоотология, ранняя химиопрофилактика и химиотерапия фасциолеза овец / А. Петков, И. Русев // Сборник научных трудов, Болгария. – 1988. – № 9/10. – С. 42-44.

93. Петров А.М. Работа 41 СГЭ в Нижегородской губернии / А.М. Петров, А.А. Скворцов – Нижний Новгород. – Изд. НАПС. – 1928.

94. Петров Ю.Ф. Поиск высокоэффективных антгельминтиков при трематодозах животных / Ю.Ф. Петров // Матер. докл. научн. конф. «Актуальные вопросы теоретической и прикладной трематодологии и цестодологии». – Москва. – 1997. – С. 116-117.

95. Петров Ю.Ф. Профилактика трематодозов крупного рогатого скота в Госплем заводах Центрального района Нечерноземья РФ / Ю.Ф. Петров, М.В. Курочкина // Матер. докл. научн. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2002. – Вып. 3. – С. 242-244.

96. Петров Ю.Ф. Особенности эпизоотического процесса трематодозов и нематодозов жвачных животных за последние 25 лет / Ю.Ф. Петров, Х.С. Абдуллаев, В.М. Кузнецов и др. // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2007. – Вып. 8. – С. 270-273.

97. Петров Ю.Ф. Эпизоотология трематодозов жвачных в Нечерноземной зоне / Ю.Ф. Петров, Х.С. Абдуллаев, В.М. Кузнецов и др. // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2008. – Вып. 9. – С. 368-373.

98. Пешкова Г.И. Растения в домашней косметике и дерматологии / Г.И. Пешкова, А.И. Шретер – Справочник. МСП. – 2001. – 684 с..

99. Потафеев Н.Е. Исследования по биологии личиночных стадий *Fasciola hepatica*: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.00.20 / Н.Е. Потафеев. – 1974. – 22 с.

100. Пухов В.И. Изучение условий существования малого прудовика и разработка способов борьбы с ним как метод профилактической борьбы с

фасциолезом / В.И. Пухов // Тр. Северо-Кавказск. научно-исслед. вет. -профилакт. ин-та. – 1934. –т.2. – С.132-149.

101. Плахинский Н.А. Биометрия / Н.А. Плахинский – Москва. – МГУ. – 2 изд-ие. – 1970. – 367 с.

102. Рехвиашвили Э.И. Распределение отдельных видов трематод при смешенной инвазии крупного рогатого скота / Э.И. Рехвиашвили // Матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2001. – С. 216-217.

103. Рехвиашвили Э.И. Эколого-эпизоотологические особенности трематодозов жвачных животных в условиях Северного и Центрального Кавказа и иммунобиологические основы их профилактики: автореф. дис...докт. вет. наук: 03.00.19 / Э.И. Рехвиашвили. – Иваново. – 2002. – 46 с.

104. Ромашов В.А. Трематоды копытных животных Воронежской области / В.А. Ромашов, И.Д. Шелякин // Матер. докл. научн. конф. «Ассоциативные паразитарные болезни, проблемы экологии и терапии». – Москва. – 1995. – С. 148-150.

105. Сазанов А.М. Некоторые данные о биологии личиночных форм *Fasciola hepatica* / А.М. Сазанов – Тр. Ростовской обл. НИВС. – 1955. –В.11. – С.95-99.

106. Сазанов А.М. Эпизоотология фасциолеза в Азовском районе Ростовской области: дис... канд. вет. наук: 03.00.20 / А.М. Сазанов. – Москва. – 1958. – С18.

107. Сазанов А.М. Пресноводные моллюски *Galba palustris* (Muller., 1874), как промежуточный хозяин *Fasciola gigantica* / А.М. Сазанов // Тр. Всес. ин-та гельминтол. – 1969. – Т. 15. – С. 265-266.

108. Сазанов А.М. Восприимчивость моллюсков к заражению *Fasciola hepatica* и *F. gigantica* / А.М. Сазанов // Материалы науч. конф. Всесоюз. о-ва гельминтологов. Москва. – 1971. – С.154-158 .

109. Сазанов А.М. Биологические основы профилактики фасциолеза в условиях орошения и осушения земель: дис... докт. вет. наук: 03.00.20 / А.М. Сазанов. – Москва. – 1976. – 463 с.
110. Сапунов А.Я. Фасциолез у овцематок на Кубани / А.Я. Сапунов, Б.Л. Гаркави, Ю.И. Шербаха // Бюл. Всес. ин-та гельминтол. – 1986. – С. 86-87.
111. Сапунов А.Я. Фасциолез овец в Краснодарском крае / А.Я. Сапунов // Тез. докл. Всес. научн. конф. «Методы профилактики и борьбы с трематодозами человека и животных». – Сумы. – 1991. – С. 107-108.
112. Сафиуллин Р.Т. Экономическое обоснование паразитарных болезней крупного рогатого скота / Р.Т. Сафиуллин // Матер. докл. научн. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2002. – Вып. 3. – С. 297-300.
113. Сафиуллин Р.Т. Распространение фасциолеза крупного рогатого скота в Российской Федерации и Калужской области / Р.Т. Сафиуллин, А.М. Устинов, С.В. Мукасеев // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2010. – Вып. 11. – С. 422-425.
114. Синицын Д.Ф. Листвяница (*Fasciola hepatica* L., 1758) в Московской губернии / Д.Ф. Синицын – Приложение к № 14 докл. Губ. земск. Упр. – 1915. – 42с.
115. Скрыбин К.И. Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека / К.И. Скрыбин – Москва. – Изд-во 1-го МГУ. – 1928. – 45 с.
116. Скрыбин К.И. Фасциолезы животных и методы борьбы с ними / К.И. Скрыбин, Р.С. Шульц – Москва. – Изд-во Сельхозгиз. – 1935. – 175 с.
117. Скрыбин К.И., Эвранова В.Г. Трематоды / К.И. Скрыбин, В.Г. Эвранова – Москва. – Издательство АН. – 1952. – Т. 7. – 180с.
118. Соколова Ф.М. Морфология, биология и экология мирацидия *Fasciola hepatica* L., 1758: автореф. дис... канд. биол. наук: 03.097 / Ф.М. Соколова. – Москва. – ВИГИС. – 1970. – 20 с.

119. Соколина Ф.М. Формирование, ультраморфология, биология и экология мирацидия *F. hepatica* (Linnaeus, 1758) / Ф.М. Соколина – Казань. – Издательство Казанского университета. – 2003. – 184 с.

120. Сорокина Н.П. Анализ заболеваемости крупного рогатого скота фасциолезом в хозяйствах Московской области / Н.П. Сорокина, И.А. Молчанов // Матер. докл. научн. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2003. – Вып. 4. – С. 428-430.

121. Сорокина Н.П. Фасциолёз человека, вызываемый *F. hepatica* / Н.П. Сорокина, А.С. Москвин, В.В. Горохов // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2003. – №1. – 37-39с.

122. Сорокина Н.П. Эпизоотологический анализ биотического потенциала фасциолы (*F. hepatica* L., 1758) в Центральном регионе России: автореф. дис... канд. вет. наук: 16.00.03 / Н.П. Сорокина. – Москва. – 2004. – 35 с.

123. Сосипатров Г.В. Динамика плотности населения моллюска *Galba truncatula* и его динамика инвазированности личинками *F. hepatica* в условиях Московской области / Г.В. Сосипатров, Е.Е. Шумакович // Материалы к научным конференциям ВОГ. – Москва. – 1966. – С. 253-256.

124. Старобогатов Я.И. Моллюски. Определитель пресноводных беспозвоночных России и сопредельных территорий / Я.И. Старобогатов и др. – Спб.: Наука. – 2004. – Т. 6. – С. 9-492.

125. Степанов И.А. Влияние возраста хозяина на размеры фасциол и их плодовитость / И.А. Степанов // Тез. докл. Всес. конф. «Методы профилактики и борьбы с фасциолезом и другими трематодозами жвачных в обводняемых и осушаемых зонах СССР» – Великие Луки. – 1977. – С. 37-39.

126. Успенский А.В. Технология скотоводства и концепция борьбы с «пастбищными» гельминтозами / А.В. Успенский, В.Ф. Никитин, П.А. Лемехов // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: Мат. докл. науч. конф. – Москва. – 2010. – С. 3-6

127. Хромов К.А. Фасциолёз и стронгилятозы желудочно-кишечного тракта крупного рогатого скота в условиях центральной зоны России и поиск

эффективных средств борьбы с ними: автореф. дис... канд. вет. наук: 03.00.19 / К.А. Хроиров. – Москва. – 2005. – 24с.

128. Худошин В.И. О природной очаговости фасциолеза жвачных в Саратовской области / В.И. Худошин, А.С. Рубин // Тез. докл. Всес. конф. «Методы профилактики и борьбы с фасциолезом и другими трематодозами жвачных в обводняемых и осушаемых зонах СССР». – Великие Луки. – 1977. – С. 99-100.

129. Хуклаева М.Г. Зараженность домашних и диких животных фасциолами в Чеченской Республике / М.Г. Хуклаева, А.М. Атаев, Х.А. Ахмедрабаданов // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2007. – Вып. 8. – С. 378-379.

130. Хуклаева М.Г. Эпизоотология фасциолеза жвачных животных в Чеченской Республике / М.Г. Хуклаева // Рос. паразитол. журнал. – 2009. – № 4. – С. 63-66.

131. Ходжаев М.Д. Эпизоотология фасциолёза крупного рогатого скота в Гиссарской долине Республики Таджикистан и совершенствования метода диагностики: дис. ... канд. вет. наук: 03.00.19 / М.Д. Ходжаев Москва. – 2009. – 158 с.

132. Чеботарев Р.С. Справочник по ветеринарной и медицинской паразитологии / Р.С. Чеботарев – Минск. – Наука и техника. – 1971. – 374 с.

133. Черкесов С.Б. Сезонная и возрастная динамика дикроцелиоза и фасциолеза яков в Кабардино-Балкарской Республике / С.Б. Черкесов, А.К. Ошхунов // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2009. – Вып. 10. – С. 416-418.

134. Шакиров А.Б. Гельминты и гельминтозы крупного рогатого скота в Кыргызской республике и меры борьбы с ними: дис. ... докт. вет. наук: 03.00.19 / А.Б. Шакиров. – Бишкек. – 2004. – С. 35-47.

135. Шелякин И.Д. Основные трематодозы домашних животных в Воронежской области / И.Д. Шелякин // Матер. докл. научн. конф. «Актуальные

вопросы теоретической и прикладной трематодологии и цестодологии». – Москва. – 1997. – С. 168-170.

136. Шелякин И.Д. Трематодофауна копытных животных в Воронежской области и биохимические показатели крови коров при фасциолезе / И.Д. Шелякин, В.Н. Кузьмичева // Рос. паразитол. журнал. – 2008. – № 3. – С. 36-40.

137. Шустрова М.В. Основные гельминтозы крупного рогатого скота и пушных зверей в Северо-Западном регионе / М.В. Шустрова, И.В. Кольцов, И.В. Доронин // Матер. докл. научн. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2002. – Вып. 3. – С. 393-395.

138. Шипшев Б.М. Эпизоотология фасциолеза жвачных животных в Кабардино-Балкарской Республике и совершенствование мер борьбы с ним: дис... канд. вет. наук: 03.00.19 / Б.М. Шипшев – 1998. – 198 с.

139. Ющука Н.Д. Инфекционные болезни: национальное руководство / Н.Д. Ющука, Ю.Я. Венгерова – Москва. – ГЭОТАР-Медиа. – 2009. – 1040 с.

140. Якубовский М.В. Эффективность нового комплексного антгельминтика трифастим при фасциолезе крупного рогатого скота / М.В. Якубовский, Н.Ю. Шурова, Т.Я. Мяцова // Матер. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – Москва. – 2008. – Вып. 9. – С. 538-539.

141. Яременко Н.А. Эпизоотология гельминтозов на пастбищах / Н.А. Яременко, И.Ф. Кленова, В.В. Горохов, У.Г. Тайчинов // Ветеринария. – 2000. – №7. – С. 3-5.

142. Adams P.N. *Fasciola hepatica* tegumental antigens indirectly induce an M2 macrophage-like phenotype in vivo / P.N. Adams, A.Aldridge, K.V.Vukman, S.Donnely, S.M.O'Neill //Parasite Immunol. – 2014. – P.531-539.

143. Adeldokun O.A. Seasonal prevalence of *Fasciola gigantica* infection among the sexes in Nigerian cattle / O.A. Adeldokun, A.B. Ayinmode, B.O. Fagbemi // Vet. Res. – 2008. – 2(1) P.12-14.

144. Afshan K. Impact of climate change and man-made irrigation systems on the transmission risk, long-term trend and seasonality of human and animal fascioliasis in Pakistan / K. Afshan, C.A. Fortes-Lima, P. Artigas, A.M. Valero, M. Qayyum, S. Mas-Coma // *Geospat Health*. – 2014. – P. 317-334.
145. Ahrens H.P. Parazitärer Befall der Leber und Gallen wegemit dem groben heberegel *F. hepatica* / H.P. Ahrens, H. Berning // *Miinch. med. Wochenscher*. – 1968. – Vol. 110. – №48. – P. 123-158.
146. Armour J. Immunity to *Fasciola hepatica* in the rat: successful tranfer of immunity by lymphoid cells and by serum / J. Armour, J.D. Dargie // *Experimental Parasitology*. – 1974. – № 35. – P. 381-388.
147. Armstrong D.A. The economic impact of fascioliasis / D.A. Armstrong // *World congress on diseases of cattle*. Amsterdam: 07-10.09.1982. – H85-2057. – Proceedings 2. – 1982. – P. 1113-1117.
148. Ayadi A.B. Etudes epidemiologiques sur un foyer de distomatose a *F. hepatica* dans les oasis de Tozeur (Tunisie) / A. B. Ayadi, M.S. Rachid. // *Bull. Soc. Fr. Parasitol.* – 1993. – 11 (2). – P. 217-222.
149. Babalola D. Economic importance of bovine fascioliasis in Nigeria / D. Babalola, Schillhom van Veen T. // *Trop. Anim. Heal. Prod.* – 1976. – 12. – P. 155-160.
150. Batteli G. Prevalence changes of bovine fasciolosis in an endemic area of Northern Italy / G. Batteli, L. Martani, G. Poglayen, G. Capelli // *Archivio veterinario Italiano*. – 1990. – 41 (5 /6). – P. 229-232.
151. Bednarz S. The development cycle of germ-cells in *Fasciola hepatica* L. 1758 Trematodes, Digenea / S. Bednarz // *Zool. Polon.* – 1962. – Vol. 12. – №4. – P. 45-69.
152. Beneden P.J. van. Pe'ne'tration des spermatozoides dans l' ocufobservee sur un Distome / P.J. Beneden – *Comptcend. Ac. Paris*. – 1858. – 46 p.
153. Bojanus R. Notice sur les Cercaires Oken's Isis/ R. Bojanus // 1818. – 258 p.
154. Bondesen P. A Comparative morphological-biological analysis of the egg capsules of fresh: aterpulmonate gastropods (*Hygrophila*, *Basommatophora* and *Pulmonata*) / P. A Bondesen // *Naturura Jutland*. – 1950. – №3: P.1-208.

155. Cawdery M.J.H. Review of the economic importance of fasciolosis in sheep and cattle / M.J.H. Cawdery // Irish Veter. News. – 1984. – P. 14-22.
156. Coles G.C. Activity of commercial fasciolicides in small laboratory mammals / G.C. Coles // Journal of Parasitology. – 1975. – № 61 – P. 54-58.
157. Charlier J. Recent advances in the diagnosis, impact on production and prediction of *Fasciola hepatica* in cattle / J.Charlier, J.Vercruyssen, E.Morgan, J.van Dijk, D.J. Williams // Parasitology. – 2014. – P. 326-335.
158. Cwiklinski K. The Extracellular Vesicles of the Helminth Pathogen, *Fasciola hepatica*: Biogenesis Pathways and Cargo Molecules Involved in Parasite Pathogenesis / K.Cwiklinski // Molecular & cellular proteomics. – 2015. – P. 3258-3273.
159. Cwiklinski K. The *Fasciola hepatica* genome: gene duplication and polymorphism reveals adaptation to the host environment and the capacity for rapid evolution / K. Cwiklinski // Genome biology. – 2015. – P. 16-71.
160. Czaplicki C. Propos d'une enzootie de distomatose porcine, Ann. / C. Czaplicki, H. A De Keyser // Med. Veter. – 1984. – 128 (3). – P.221-224.
161. Di Maggio L. S. *et al.* Across intra-mammalian stages of the liver fluke *Fasciola hepatica*: a proteomic study / L. S. Di Maggio // Sci. Rep. – 2016. – 16 p.
162. Ehrenberg S. Naturgeschichtliche Reisen durch Nord-Africa und West-Asien in den Jahren 1820 bis 1825 / S. Ehrenberg // Bd 1. – Abt. 1. – B. – 1828. – P.158-189
163. Garcia E. Moluscos continentales de Mexico / E. Garcia // Revista Biologia Tropical, 51. – 2003. – P. 495-505.
164. Goodall E.A. A bivariate autoregressive model for estimation of prevalence of fasciolosis in cattle / E.A. Goodall, F.D. Menzies, S.M. Taylor // Anim. Prod. – 1993. – 57 (2) – P.221-226.
165. Hayes T.J. Immunity in rats to superinfection with *Fasciola hepatica* / T.J. Hayes, J. Bailer, M. Mitrovic // Journal of Parasitology. – 1972. – №58. – P. 1103-1105.
166. Henneguy L.F. Sur la Formation de l'œuf la maturation et la fécondation de l'œocyte chez le Distomum hepaticum / L.F. Henneguy – Paris C.R.Acad. Sci. – 1902. – 34 p.

167. Henneguy L.F. Recherches sur le mode de formation de l'ocuf ectolecithe du *Distomum hepaticum* / L.F. Henneguy // Arch. Anat. Micr. – 1906. – №1. – 9p.
168. Hoover R.S. Seasonal transmission of *F. hepatica* to cattle in Northwestern United States / R.S. Hoover, D. Lincolus, R.F. Hall, R. Wescott. J. Am. Veter. Med. – Assn. – 1984. – 184 (6). – P.695-698.
169. Hughes D.L. The Establishment and Duration of *Fasciola hepatica* Infections in Two Strains of Rats and the Development of Acquired Resistance / D. L. Hughes, E. Harness, T. G. Doy // Res. Vet. Sci. – 1976. – №20 (3, 2). – P. 207-211.
170. Kouri P. Formation of the egg shell in *Fasciola hepatica* as demonstrated by histological methods / P. Kouri, R.W. Nauss // J. Parasitol. – 1939. – Vol.24. – №4.
171. Kumar S. Infertility in rural cows in relation to fascioliasis / S. Kumar, M.C. Sharma // Indian J. Anim. Sci. – 1991. – 61(8). – P.838-840.
172. Leuckart R. Zur Entwicklungsgeschichte des Leberegels (*Distomum hepaticum*) / R. Leuckart // Arch. Naturg. Berl. – 1882. – Bd.48. – N.1. – P. 80-119.
173. Levieux D. Early immunodiagnosis of caprine fasciolosis using the specific f2 antigen in passive hemogglutination test / D. Levieux, A. Levieux // Vet. Parasitol. – 1994. – 53. – P.59-66.
174. Lienert E. Die durch Hexachlorophen (G-II) erzielbare tödliche. Wirkung auf den groszen Leberegel (*Fasciola hepatica* L., 1758) wird durch das Blut des Wirtes vermittelt / E. Lienert // Chemotherapia. 1960. – №1. – P. 384-391.
175. Mage C. Reflexions sur la prevention de la fasciolose en France / C. Mage // Rondelaud. Doss. Elevage. – 1983, 2. – P. 21-30.
176. Mage C. Nouvelles donnees sur les hotes intermediares de *F. hepatica* / C. Mage, D. Thibault // Rev. Med. Veter. – 1989, 2. – P 129-133.
177. Maingi N. Acute fatal fascioliasis in sheep in Kinangop district of Kenya / N. Maingi, S.N. Mathenge // Bull. Anim. Health. Prod. Afr. – 1995, 1. – P. 21-27.
178. Maisonnave J. Standardization of an immunoperolidase assay for field diagnosis of *F. hepatica* infected cattle / J. Maisonnave // Veter. Parasitol. – 1999. – 85. – P.259-268.
179. Malone J.B. Geographic information system on the potential distribution of

Fasciola hepatica and *F. gigantica* in east Africa based on Food and agriculture organization databases / J.B. Malone, R. Gommers, J. Hansen, J.M. Yima, E.A. Ataman // *Veter. Parasitol.* – 1984, 2 – P.131-141.

180. Mango A.M. A preliminary note on the susceptibility prepatency and recovery of *Fasciola gigantica* in small laboratory animals / A.M. Mango, C.K.A. Mango, D. Esamal // *J. Helminthol.* – 1972. – № 46: P. 381-386.

181. Mattes O. Zur Biologie der Larvenentwicklung von *Fasciola hepatica*, besonders über den Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration auf das Ausschließen der Miracidien / O. Mattes – *Zool. Anz.* – 1926. – P.69.

182. Mehlis V.V. Notice sur les oeufs d'*Oken's Isis*/ V.V. Mehlis // – 1831. – P. 36-69.

183. Michalski M. Występowanie motylicy wątrobowej u krow mlecznych północno-wschodniej Polski / M. Michalski, K. Romaniuk // *Medycyna wet.* – 2000. – 56 (3). – P.59-63.

184. Molina-Hernandez V. *et al.* *Fasciola hepatica* vaccine: we may not be there yet but were on the right road/ Molina-Hernandez// *Veterinary parasitology.* – 2015. – P. 208, 101-111.

185. Olaechea F. *Fasciola hepatica* / F. Olaechea // *Comunicaciones técnicas* № 449. Ediciones INTA. Argentina. – 2004.–9 p.

186. Ortmann W. Zur Eibehälterentwicklung des Leberegel (Fasciola hepatica) / W. Ortmann // *Zool. Jahrb. Abt. Anat. Ontogen.* – 1908. – 26 p.

187. Pagenstecher R. Trematoden larven und Trematoden Heidelberg / R. Pagenstecher // 1857. – P. 236-287

188. Railliet A. Recherches expérimentales sur le développement de la Douve hépatique (*Fasciola hepatica* L.) / A. Railliet, G. Moussu, A. Henry // *Recueil de médecine vétérinaire.* – 1913. – Vol.40. – №1.

189. Ratnaparkhi M.R. A short note on prevalence of *Fasciola* infection in domestic animals of animal health. Assiut / M.R. Ratnaparkhi, U.V. Shastri, B.W. Narladkar, N.M. Deglookar, S.U. Digraask // *Vet. Med. J.* – 1993. – 32 (10). – P 83-85.

190. Redi F. Osservazioni di Francesco Redi. Inforno Agli Animali Viventi chesi Trovano Negli Animali Viventi. Piero Matini, Florence. – 1684. P.123-145.
191. Rojas M. La fasciolosis en – Peru / M. Rojas, M. Oyala, J. Ortiz, T. Qusipe // Rev. Peru, de Parasitol. – 2003, 2. – P 21-25.
192. Schellenberg A. Ovogenese, Eireifungung Betrichtung von Fasciola hepatica / A. Schellenberg // Arch. f. Zellforsch. – 1911. – Vol.6. – №3.
193. Schubmann W. Uber die Eibildung und Embryonalen twicklung von Fasiola hepatica L. (Distomum hepaticum Retz) II Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. – 1905. –Vol.21. – №1.
194. Schwarze E. Die postembryonale Entwicklmg der Treaatoden / E. Schwarze // Zeitschrift fur wiss Zool. – 1885. – Vol.43.
195. Swammerdam L. Библия природы / L. Swammerdam – Амстердам. – 1737. – 214 p.
196. SESA - Servicio Ecuatoriano de Sanidad Animal. Estadisticas anales de control epidemiologico. Quito. – 2003. – 90 p.
197. Shahlapour A.A. Futher observations on the susceptibilty of different species of L. snails of Iran to miracidia of *F. hepatica* and *F. gigantica* / A.A. Shahlapour, J. Massound, J.H. Nazary, M.N. Rahnou // Arch. Inst. RAZI. – 1994. – (44/45). – P 11-18.
198. Siebold S. Helminthologtsche Beitrage, in Archivf / S. Siebold // Naturgsch. Jahrg.1. –1835. – Bd. I.
199. Steenstrup J.J.S. Uber den Generattons vechsel / J.J.S. Steenstrup // Copenhagen. – 1842. – P 65-74.
200. Srivastava A.K., Singh, V.K. Behavioural responses of the snail *Lymnaea acuminata* to carbohydrates in snail-attractant pellets// Springer, Naturwissenschaften. – Volume 91. – Issue 8. – August 2004. – Pages 378-380.
201. Srivastava A.K., Singh, V.K. Alteration in certain biochemical parameters fed to bait containing piperine against *Lymnaea acuminata*: Intermediate host of *Fasciola gigantica* //Asian Journal of Biochemistry 10(5) – 2015. – Pages 214-221.

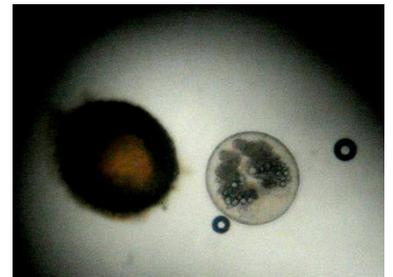
202. Tiwari F., Singh D.K. Attraction to amino acids by *Lymnaea acuminata*, the snail host of *Fasciola* species //Brazilian Journal of Medical and Biological Research. – Volume 37. – Issue 4. – April 2004. – Pages 587-590.
203. Thomas A. The life history of the liver fluke: *Fasciola hepatica* / A. Thomas // Quart. Journ. mierose. Sc. (N.S). – 1883. – 23p.
204. Vasconcellos M.C. Molluscicidal activity of Crowfoot Christ (*Euphorbia splendens* var. *hislopii*) (Euphorbiaceae) Latex submitted to pH variation / M.C. Vasconcellos, J.A. Albuquerque, I. Paz, F.E. Ferreira, V. Torres // Brazilian Arch. Biol. Technol. – 2003. – 46. – P.415-420.
205. Wagener G.R. Uber Redien und Sporocysten Filippi / G.R. Wagener // Arch. f. Anat. Physiol, viss. Med. – 1866. – №6. – P. 23-31.
206. Walker H. Election in Iraq / H. Walker, T. Clark // 30 January 2005. An assess. J. Asian Affairs. – 2005. – 36 (2) P.182.
207. Weinland E. Beobachtungen an *Fasciola hepatica* / E. Weinland, Th. Brand // Zeitschr. Vergl. Physiol. – 1926.–V.4. – P. 212-285.
208. Wescott R.B. Diagnosis of naturally occurring *F. hepatica* infections in cattle with an enzyme-linked immunosorbent assay / R.B. Wescott, C.J. Farrell, D.T. Shen // Am. J. Veter. Res. – 1984, 1. – P.178-179.
209. Yosufzai H.K. Cytological studies on the spermatogenesis of *Fasciola hepatica* / H.K. Yosufzai // Cellule. – 1953. – Vol.55. – №2.
210. Yosufzai H.K. Fertilization in *Fasciola hepatica* L. / H.K. Yosufzai // Cellule. – 1953. – Vol.55. – №2. – P. 58-69.
211. Zarnowski E. Investigation on the anti-liver-fluke therapy / E. Zarnowski // Wiadomosci parazytologiczne. – 1968. – P. 69-72.
212. Zmuda K. Motolicnatost skotu v okrese Flydek-Mistek / K. Zmuda, K. Choust // Veterinarstvi. – 2002. – 52 (4). – P.181-218.

10. ПРИЛОЖЕНИЕ

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и
прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина
(ФГБНУ «ВНИИП им. К.И. Скрябина»)

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

модифицированная методика содержания моллюсков *Lymnaea truncatula* с
целью получения адолескариев возбудителя фасциолеза *Fasciola hepatica*



УДК 619:616.9

Автор: Постевой А.Н., Горохов В.В., Андреянов О.Н., Пузанова Е.В.

Методические рекомендации разработаны Всероссийским научно-исследовательским институтом фундаментальной и прикладной паразитологии им. К.И. Скрябина (ВНИИП им. К.И.Скрябина) в соответствии с монографиями: Экспериментальные модели паразитозов в биологии и медицине (Б.А. Астафьев и др., 1989), Гельминтологические исследования животных и окружающей среды (Котельников Г.А., 1984, 1991), Методы сбора и изучения гельминтов наземных млекопитающих (Ивашкин В.М. и др., 1971), Санитарная гельминтология (Романенко Н.А., 1982) и другими базовыми изданиями.

В настоящих методических рекомендациях предложен усовершенствованный способ содержания малого прудовика *Lymnaea truncatula* (промежуточного хозяина фасциолёза) для получения инвазионной формы – адолескария трематоды *Fasciola hepatica*. Методические рекомендации предназначены для моделирования инвазии в условиях лаборатории научным сотрудникам исследовательских лабораторий, малакологам, биологам, студентам биологического, ветеринарного и медицинского профиля.

Материалы рассмотрены и одобрены секцией «Инвазионные болезни» в ВНИИП протокол №3 от 22.09.2017 г.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2637856

**Моллюскоцидное средство для борьбы с возбудителями
гельминтозов и способ его получения**

Патентообладатель: **ФАНО России Федеральное государственное бюджетное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений имени К.И. Скрябина (ФГБНУ "ВНИИП им. К.И. Скрябина") (RU)**

Авторы: **см. на обороте**

Заявка № 2016104687

Приоритет изобретения 12 февраля 2016 г.

Дата государственной регистрации в

Государственном реестре изобретений

Российской Федерации 07 декабря 2017 г.

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает 12 февраля 2036 г.

Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

