

УДК 619:616.98:578

Т.И. Глотова, А.А. Никонова,
А.Г. Глотов, Т.В. Ямковая

**ПОИСК НОВЫХ ПРЕПАРАТОВ, ЭФФЕКТИВНЫХ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ
ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ – БОЛЕЗНИ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

*T.I. Glotova, A.A. Nikonova,
A.G. Glotov, T.V. Yamkovaya*

**THE SEARCH FOR NEW DRUGS, EFFECTIVE AGAINST BOVINE VIRAL DIARRHEA VIRUS,
DISEASE OF MUCOUS MEMBRANES OF THE CATTLE**

Глотова Т.И. – д-р биол. наук, проф., зав. лаб. вирусологии Сибирского федерального научного центра агrobiотехнологий РАН, Новосибирская обл., Новосибирский р-н, п. Краснообск. E-mail: t-glotova@mail.ru

Никонова А.А. – мл. науч. сотр. лаб. вирусологии Сибирского федерального научного центра агrobiотехнологий РАН, Новосибирская обл., Новосибирский р-н, п. Краснообск. E-mail: asenok2012@mail.ru

Глотов А.Г. – д-р вет. наук, зав. лаб. биотехнологии – диагностического центра Сибирского федерального научного центра агrobiотехнологий РАН, Новосибирская обл., Новосибирский р-н, п. Краснообск. E-mail: glotov_vet@mail.ru

Ямковая Т.В. – канд. биол. наук, науч. сотр. лаб. вирусологии Сибирского федерального научного центра агrobiотехнологий РАН, Новосибирская обл., Новосибирский р-н, п. Краснообск. E-mail: t-glotova@mail.ru

Glotova T.I. – Dr. Biol. Sci., Prof., Head, Lab. of Virology, Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies, RAS, Novosibirsk Region, Novosibirsk District, Settlement Krasnoobsk. E-mail: t-glotova@mail.ru

Nikonova A.A. – Junior Staff Scientist, Lab. of Virology, Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies, RAS, Novosibirsk Region, Novosibirsk District, Settlement Krasnoobsk. E-mail: asenok2012@mail.ru

Glotov A.G. – Dr. Vet. Sci., Head, Lab. of Biotechnology – Diagnostic Center, Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies, RAS, Novosibirsk Region, Novosibirsk District, Settlement Krasnoobsk. E-mail: glotov_vet@mail.ru

Yamkovaya T.V. – Cand. Biol. Sci., Staff Scientist, Lab. of Virology, Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies, RAS, Novosibirsk Region, Novosibirsk District, Settlement Krasnoobsk.. E-mail: t-glotova@mail.ru

Вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота, широко распространена во многих странах мира и считается самым важным заболеванием, имеющим экономическое значение для современного животноводства. Одним из главных инструментов борьбы с данной инфекцией является вакцинация животных. Она позволяет профилировать острые вспышки заболевания и эмбриональную смертность плода, но не персистентную и субклиническую формы инфекции у телят. Большое разнообразие типов и субтипов, установленное в настоящее время у вируса, требует создания более эффективных вакцин и поиска различных препаратов и химических соединений с выраженной проти-

*вовирусной активностью. В настоящее время нет эффективных противовирусных препаратов для лечения различных форм этого заболевания у крупного рогатого скота. Представлены результаты изучения эффективности нового препарата в отношении возбудителя вирусной диареи – болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота, полученные при проведении исследований *in vivo* на естественно инфицированных телятах с субклинической формой инфекции. При выполнении работы использованы клинические, гематологические, вирусологические и серологические методы исследований. Опыты проведены на телятах 3-4-месячного возраста, естественно инфицированных вирусом с субклиниче-*

ской формой инфекции. Определена эффективная доза препарата, которая составила 0,5 мг/кг массы тела. Интраназальное введение препарата в этой дозе ежедневно на протяжении 10 дней привело к сокращению сроков выделения вируса с носовыми секретами, нормализации клинического состояния животных, температуры тела и гематологических показателей. Результаты серологических исследований парных проб сыворотки крови ретроспективно подтвердили этиологическую роль вируса в развитии у телят субклинической формы инфекции.

Ключевые слова: высокополимерная РНК, возбудитель вирусной диареи – болезни слизистых оболочек, крупный рогатый скот.

Bovine viral diarrhea, the illness of mucous membranes of cattle is widespread in many countries of the world and it is considered to be the most important disease having economic value for modern animal husbandry. One of the main instruments of the fight against this infection is vaccination of animals. It allows preventing sharp disease outbreaks and embryonic mortality of a fetus, but not persistent and subclinical forms of an infection in calves. A big variety of types and subtypes established now at the virus demands creation of more effective vaccines and search of various preparations and chemical compounds with the expressed antiviral activity. Now there are no effective antiviral preparations for treatment of various forms of this disease in cattle. The results of studying the efficiency of a new preparation concerning the causative agent of viral diarrhea illness of mucous membranes of cattle received when carrying out the researches in vivo in naturally infected calves with a subclinical form of an infection are presented. When performing the study clinical, hematologic, virologic and serologicheskyy methods of researches are used. The experiments were made in the calves of 3–4 months of age who are naturally infected with the virus with a subclinical form of an infection. The effective dose of a preparation which made 0.5 mg/kg of body weight was defined. Intranasal introduction of the preparation in this dose daily for 10 days led to the reduction of terms of allocation of the virus with nasal secrets, normalization of clinical condition of animals, body temperature and hematologic indicators. The results of

serological researches of pair tests of serum of blood retrospectively confirmed etiologic role of a virus in the development in calves of a subclinical form of infection.

Keywords: high-polymeric RNA, pathogen of bovine viral diarrhea-mucosal disease, cattle.

Введение. Среди многообразия вирусных агентов, вызывающих патологию у крупного рогатого скота (КРС), возбудитель вирусной диареи-болезни слизистых оболочек занимает особое место [1–3]. Вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота (ВД-БС КРС) имеет глобальное распространение во многих странах мира и считается одним из самых важных заболеваний, имеющих экономическое значение для современного животноводства [2].

Вирус ВД-БС КРС представлен двумя типами и двумя биотипами: цитопатогенным и нецитопатогенным [4]. К настоящему времени он насчитывает до 20 субтипов первого типа и пять субтипов второго типа [5–6]. Инфицирование неиммунных к вирусу телок и коров в период полового цикла приводит к неудачным оплодотворениям, повторным приходам в охоту, бесплодию, эмбриональной смертности, абортам, рождению мертвых телят, снижая тем самым экономическую эффективность отрасли животноводства и косвенно способствуя недополучению продукции животноводства [7–11].

Кроме острых («транзитных») форм инфекции патоген вызывает иммунотолерантные эмбриональные инфекции, приводя к рождению персистентно инфицированных телят, являющихся постоянным эндогенным источником возбудителя [12]. Многие из них гибнут до 6 месяцев, однако некоторые доживают до взрослого состояния и используются при воспроизводстве стада, обеспечивая тем самым непрерывность эпизоотического процесса болезни [8].

Несмотря на то, что стратегия применения вакцин на протяжении десятилетий является одним из главных инструментов борьбы с данной инфекцией и дает положительные результаты [13–14], до сих пор ВД-БС КРС остается серьезной глобальной проблемой во всем мире, в том числе и в Российской Федерации.

В настоящее время нет противовирусных препаратов для борьбы с вирусом ВД-БС КРС, и

поиск новых соединений, эффективных в отношении этого возбудителя, является важной задачей современной науки. Это обусловлено несколькими причинами. Во-первых, ограниченной эффективностью существующих вакцин из-за задержки между их введением и выработкой защитных антител. Противовирусные средства имеют преимущество в том, что обеспечивают почти мгновенную защиту от вирусного заражения. Во-вторых, существующее разнообразие субтипов вируса ВД-БС КРС требует создания новых высокоэффективных вакцин, способных обеспечить перекрестную защиту против различных штаммов вируса, что пока недостижимо. Противовирусная терапия может стать хорошей альтернативой вакцинации в этом случае. Применение вакцин и химиопрепаратов можно успешно комбинировать. Такой подход был бы особенно полезен в ситуации с откормочными площадками, где телят с неизвестным иммунным статусом группируют вместе и они подвергаются воздействию множества патогенов, что особенно опасно на фоне стресса, возникающего во время перегруппировки стада [15].

Таким образом, поиск новых противовирусных препаратов, эффективных в отношении возбудителя ВД-БС КРС, является актуальной задачей и имеет большое научное и практическое значение.

Цель работы. Изучение противовирусной активности нового препарата в отношении вируса ВД-БС КРС в условиях *in vivo*.

Объекты и методы исследований. В качестве противовирусного препарата использовали мылкий амфифильный комплекс одноцепочечной высокополимерной РНК с олеиновой кислотой с установленной ранее в условиях *in vitro* активностью в отношении вируса ВД-БС КРС.

Исследования провели в неблагополучном по ВД-БС КРС хозяйстве на естественно инфицированных телятах 3–4-месячного возраста черно-пестрой породы, у которых заболевание протекало в субклинической форме. У животных отмечали снижение аппетита и общей активности, незначительные выделения из носа, повышение температуры тела и лейкопению.

По принципу аналогов отобрали 24 животных, которых разделили на 4 одинаковые груп-

пы. Телятам первой опытной группы интраназально закапывали препарат в дозе 0,15 мг/кг массы тела ежедневно в течение 10 дней; второй – препарат вводили тем же способом в дозе 0,5 мг/кг массы тела. Телята третьей и четвертой групп служили контролем, им интраназально вводили физиологический раствор и другие препараты по схеме, принятой в данном хозяйстве.

За опытными и контрольными группами животных наблюдали на протяжении 15 дней, ежедневно измеряя температуру тела, отбирая тампонные пробы носовых выделений для установления длительности выделения вируса ВД-БС КРС.

Противовирусную активность препарата определяли по снижению инфекционной активности и длительности выделения вируса с носовыми секретами, а лечебное действие – по изменению гематологических показателей, нормализации температуры тела и клинического состояния животных.

Для установления сероконверсии к вирусу ВД-БС КРС исследовали парные пробы сыворотки крови, отобранные от телят перед применением препарата и через три недели. Эти исследования были необходимы для подтверждения этиологической роли вируса в возникновении выявленной патологии у животных в данном хозяйстве.

Данные статистически обрабатывали в соответствии с общепринятыми методами [16]. Титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча [17].

Результаты и их обсуждение. В результате проведенных исследований было установлено, что доза препарата 0,15 мг/кг, вводимая в течение 10 дней, не вызвала у телят первой опытной группы видимых изменений клинического состояния по сравнению с контрольными животными, что косвенно свидетельствовало об отсутствии противовирусного эффекта. Показатели температуры тела у телят первой опытной и третьей контрольной групп существенно не различались. Выздоровление животных наступало на 9–11-й день, а длительность выделения возбудителя с носовыми секретами в обеих группах составляла 8–9 дней (рис. 1).

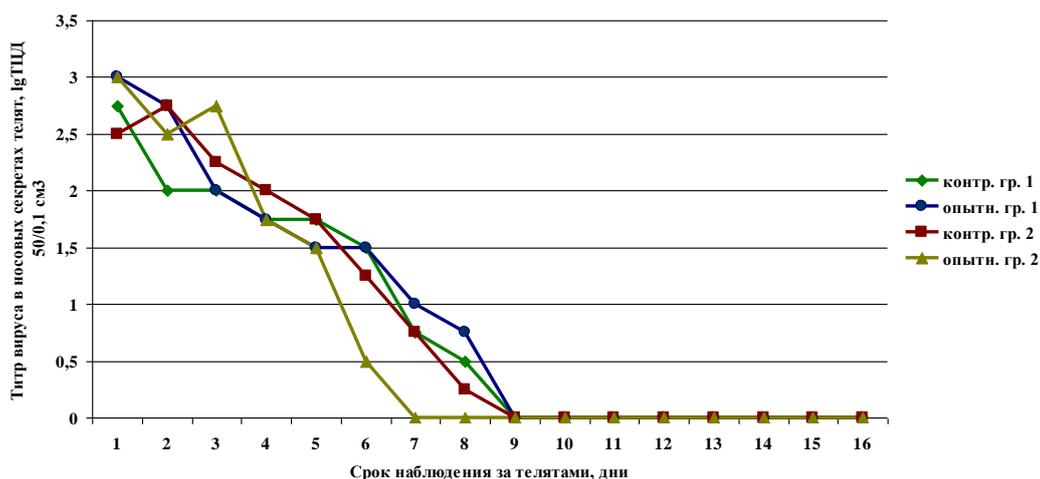


Рис. 1. Длительность выделения вируса с носовым секретом телят опытных и контрольных групп

Улучшение клинического состояния телят (8,5 ± 0,2) день после начала введения препарата второй опытной группы отмечали на 5–6-й та (рис. 2, 3). (5,5 ± 0,2) день, а выздоровление – на 8–9-й

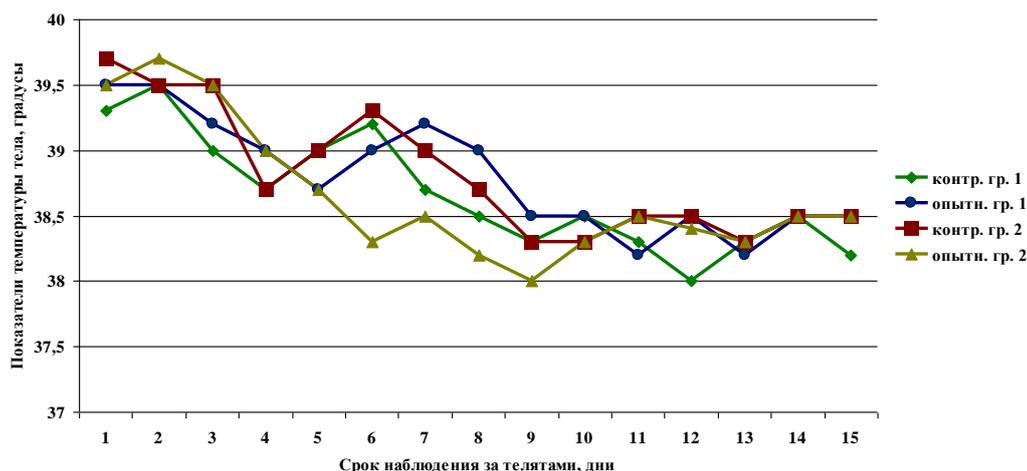


Рис. 2. Температура тела телят опытных и контрольных групп

У животных отмечали восстановление аппетита, повышение активности и нормализацию клинического состояния (исчезали выделения из носа, гематологические показатели и температура тела приходили в норму). На 6–7-й день количество лейкоцитов в крови повысилось до $5700 \pm 133,3/\text{мм}^3$. Температура тела и гематологические показатели телят четвертой группы на 9–11-й ($10,5 \pm 0,3$) день достигали физиологической нормы.

Длительность выделения вируса с носовым секретом у телят второй группы составила 5–6 ($5,5 \pm 0,2$) дней, а у особей четвертой – 7–9 ($7,8 \pm 0,3$) дней. Максимальные титры вируса в носовых секретах животных обеих групп регистрировали с 1-го по 3-й день. Они составляли 2,5–3,0 lg TCID₅₀/cm³, с последующим снижением до $0,5 \pm 0,12$ lg TCID₅₀/cm³ во второй группе на 5–6-й день, а у контрольных животных – на 8–9-й день.

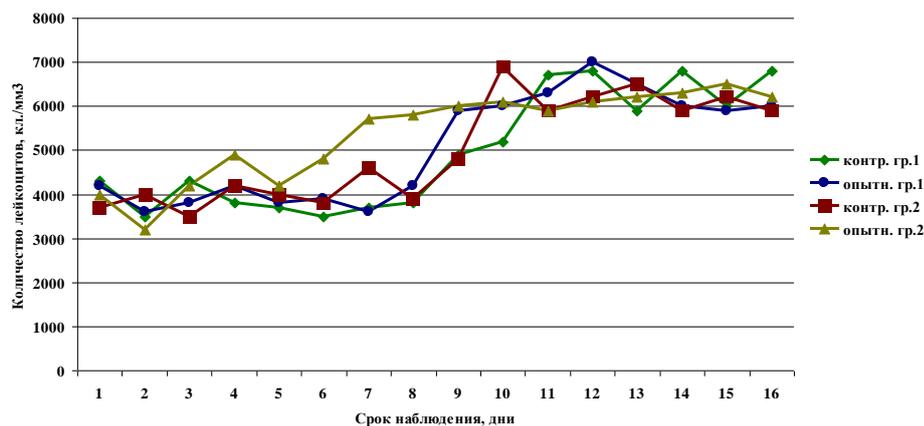


Рис. 3. Количество лейкоцитов в крови телят опытных и контрольных групп

Таким образом, у животных второй опытной группы сроки выздоровления и выделения вируса с носовыми секретами сократились в среднем на 2 дня по сравнению с таковыми в контрольной группе. Это свидетельствует о том, что испытуемый препарат в дозе 0,5 мг/кг при ежедневном применении в течение 10 дней проявляет противовирусную активность в отношении возбудителя вирусной диареи-болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота *in vivo*.

При ретроспективном исследовании парных проб сыворотки крови 3–4-месячных телят выявили диагностический прирост титров вируснейтрализующих антител в 41,7 % случаев, что подтвердило этиологическую роль вируса ВД-БС КРС в развитии у телят субклинической формы инфекции.

Полученные результаты исследований свидетельствуют, что испытуемый нами препарат в дозе 0,5 мг/кг при ежедневном в течение 10 дней интраназальном введении телятам с субклинической формой ВД-БС КРС сокращает сроки выделения вируса с носовыми секретами, нормализует температуру тела и гематологические показатели.

Выводы. Полученные данные могут в дальнейшем послужить основой для разработки эффективной схемы применения данного препарата в качестве противовирусного средства при терапии высокоценных племенных животных, в частности быков-производителей, инфицированных вирусом, однако для этого необходимы дополнительные исследования. Кроме того, эффективность этого препарата у телят

можно значительно повысить путем получения его лекарственной формы для аэрозольного применения.

Литература

1. Распространение инфекционного ринотрахеита и вирусной диареи-болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота в различных регионах России / К.П. Юров, А.Ф. Шуляк [и др.] // Тр. ВИЭВ. – 2003. – № 73. – С. 15–22.
2. *Ridpath J.F.* Bovine viral diarrhea virus: global status // *Veterinary Clinics Food Animal Practice*. – 2010. – № 26. – P. 105–121.
3. Распространение вирусных респираторных болезней крупного рогатого скота / А.Г. Глотов, О.Г. Петрова, Т.И. Глотова [и др.] // *Ветеринария*. – 2002. – № 3. – С. 17–21.
4. *Deregt D., Loewen K.G.* Bovine viral diarrhea virus: biotypes and disease // *Can. Vet. J.* – 1995. – Vol. 36 (6). – P. 71–78.
5. Numerical taxonomy of the genus Pestivirus: new software for genotyping based on the palindromic nucleotide substitutions method / *M. Giangaspero, C. Apicella, R. Harasawa [et al.]* // *J. Virol. Methods*. – 2013. – Vol. 192 (1–2). – P. 59–67.
6. *Giangaspero M., Harasawa R.* Characterization of genotypes among bovine viral diarrhea virus type 1 strains according to palindromic nucleotide substitutions in the genomic 5'-untranslated region // *J. Virol. Methods*. – 2014. – Vol. 195. – P. 34–53.

7. *Evermann J.F., Ridpath J.F.* Clinical and epidemiologic observations of bovine viral diarrhoea virus in the northwestern United States // *Vet Microbiol.* – 2002. – Vol. 89 (2–3). – P. 129–139.
8. *Muñoz-Zanzi C.A., Thurmond M.C., Hietala S.K.* Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers // *Theriogenology.* – 2004. – Vol. 61 (6). – P. 1085–1099.
9. *Grooms D.L.* Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus // *Vet. Clin. North. Am Food Anim Pract.* – 2004. – Vol. 20(1). – P. 5–19.
10. Relative associations of cattle movements, local spread, and biosecurity with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) seropositivity in beef and dairy herds / *M.C. Gates, M.E. Woolhouse, G.J. Gunn [et al.]* // *Prev Vet Med.* 2013. – Vol. 112 (3–4). – P. 285–295.
11. *Kelling C.L., Topliff C.L.* Bovine maternal, fetal and neonatal responses to bovine viral diarrhoea virus infections // *Biologicals.* – 2013. – Vol. 41 (1). – P. 20–25.
12. Effect of Bovine Viral Diarrhoea Virus on the ovarian functionality and in vitro reproductive performance of persistently infected heifers / *E.A. González Altamiranda, Kaiser, N.C. Mucci [et al.]* // *Vet Microbiol.* – 2013. – Vol. 165 (3–4). – P. 326–332.
13. *Глотов А.Г., Краснов В.В., Глотова Т.И.* Эффективность вакцинации при профилактике абортос, вызванных вирусом диареи – болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота // *Вестник КрасГАУ.* – 2010. – № 2. – С. 89–94.
14. *Griebel P.J.* BVDV vaccination in North America: risks versus benefits // *Anim Health Res Rev.* – 2015. – Vol. 16 (1). – P. 27–32.
15. Effect of treatment with a cationic antiviral compound on acute infection with bovine viral diarrhoea virus / *B.W. Newcomer, M.S. Marley, P.K. Galik [et al.]* // *Canadian Journal Veterinary Research.* – 2013. – Vol. 77. – P. 170–176.
16. *Ашмарин И.П., Васильев Н.Н., Амбросов В.А.* Быстрые методы статистической обработки и планирования экспериментов. – Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1974. – 76 с.
17. *Львов Д.К.* Медицинская вирусология: руководство. – М.: ООО «Мед. информ. агентство», 2008. – 656 с.

Literatura

1. Rasprostranenie infekcionnogo rinotraheita i virusnoj diarei-bolezni slizistyh obolochek krupnogo rogatogo skota v razlichnyh regionah Rossii / *K.P. Jurov, A.F. Shuljak [i dr.]* // *Tr. VIJeV.* – 2003. – № 73. – S. 15–22.
2. *Ridpath J.F.* Bovine viral diarrhoea virus: global status // *Veterinary Clinics Food Animal Practice.* – 2010. – № 26. – P. 105–121.
3. Rasprostranenie virusnyh respiratornyh boleznej krupnogo rogatogo skota / *A.G. Glotov, O.G. Petrova, T.I. Glotova [i dr.]* // *Veterinarija.* – 2002. – № 3. – S. 17–21.
4. *Deregt D., Loewen K.G.* Bovine viral diarrhoea virus: biotypes and disease // *Can. Vet. J.* – 1995. – Vol. 36 (6). – R. 71–78.
5. Numerical taxonomy of the genus Pestivirus: new software for genotyping based on the palindromic nucleotide substitutions method / *M. Giangaspero, C. Apicella, R. Harasawa [et al.]* // *J. Virol. Methods.* – 2013. – Vol. 192 (1–2). – P. 59–67.
6. *Giangaspero M., Harasawa R.* Characterization of genotypes among bovine viral diarrhoea virus type 1 strains according to palindromic nucleotide substitutions in the genomic 5'-untranslated region // *J. Virol. Methods.* – 2014. – Vol. 195. – P. 34–53.
7. *Evermann J.F., Ridpath J.F.* Clinical and epidemiologic observations of bovine viral diarrhoea virus in the northwestern United States // *Vet Microbiol.* – 2002. – Vol. 89 (2–3). – P. 129–139.
8. *Muñoz-Zanzi C.A., Thurmond M.C., Hietala S.K.* Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers // *Theriogenology.* – 2004. – Vol. 61 (6). – P. 1085–1099.
9. *Grooms D.L.* Reproductive consequences of infection with bovine viral diarrhoea virus // *Vet. Clin. North. Am Food Anim Pract.* – 2004. – Vol. 20(1). – P. 5–19.
10. Relative associations of cattle movements, local spread, and biosecurity with bovine viral diarrhoea virus (BVDV) seropositivity in beef

- and dairy herds / M.C. Gates, M.E. Woolhouse, G.J. Gunn [et al.] // *Prev Vet Med*. 2013. – Vol. 112 (3–4). – P. 285–295.
11. Kelling C.L., Topliff C.L. Bovine maternal, fetal and neonatal responses to bovine viral diarrhea virus infections // *Biologicals*. – 2013. – Vol. 41 (1). – P. 20–25.
 12. Effect of Bovine Viral Diarrhea Virus on the ovarian functionality and in vitro reproductive performance of persistently infected heifers / E.A. González Altamiranda, Kaiser, N.C. Mucci [et al.] // *Vet Microbiol*. – 2013. – Vol. 165 (3–4). – P. 326–332.
 13. Glotov A.G., Krasnov V.V., Glotova T.I. Эффективность вакцинации при профилактике abortов, вызванных вирусом диареи-болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота // *Vestnik KrasGAU*. – 2010. – № 2. – S. 89–94.
 14. Griebel P.J. BVDV vaccination in North America: risks versus benefits // *Anim Health Res Rev*. – 2015. – Vol. 16 (1). – P. 27–32.
 15. Effect of treatment with a cationic antiviral compound on acute infection with bovine viral diarrhea virus / B.W. Newcomer, M.S. Marley, P.K. Galik [et al.] // *Canadian Journal Veterinary Research*. – 2013. – Vol. 77. – P. 170–176.
 16. Ashmarin I.P., Vasil'ev N.N., Ambrosov V.A. Быстрые методы статистической обработки и планирования экспериментов. – Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1974. – 76 с.
 17. L'vov D.K. Медицинская вирусология: руководство. – М.: ООО «Med. inform. agentstvo», 2008. – 656 с.



УДК 638.1

Т.Ф. Лефлер, Н.В. Донкова, П.В. Сундеев

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ СОСТАВНЫХ ЧАСТЕЙ ХОБОТКА ПЧЕЛ ЕНИСЕЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ

T.F. Lefler, N.V. Donkova, P.V. Sundeev

MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF THE COMPONENT PARTS OF THE PROBOSCIS OF BEES YENISEI POPULATIONS

Лефлер Т.Ф. – д-р с.-х. наук, проф., зав. каф. кормления и технологии производства продуктов животноводства Красноярского государственного аграрного университета, г. Красноярск. E-mail: leflertam@yandex.ru

Донкова Н.В. – д-р вет. наук, проф., зав. каф. анатомии, патологической анатомии и хирургии Красноярского государственного аграрного университета, г. Красноярск. E-mail: dnv-23@mail.ru

Сундеев П.В. – асп. каф. кормления животных, технологии производства, переработки и хранения сельскохозяйственной продукции Красноярского государственного аграрного университета, г. Красноярск. E-mail: info@kgau.ru

Lefler T.F. – Dr. Agr. Sci., Prof., Head, Chair of Feeding of Animals, Technologies of Production, Processing and Storage of Agricultural Production, Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk. E-mail: leflertam@yandex.ru

Donkova N.V. – Dr. Vet. Sci., Prof., Head, Chair of Anatomy, Pathological Anatomy and Surgery, Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk. E-mail: dnv-23@mail.ru

Sundeev P.V. – Post-Graduate Student, Chair of Feeding of Animals, Production Technologies, Processing and Storage of Agricultural Production, Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk. E-mail: info@kgau.ru

Длина хоботка у пчел имеет огромное селекционное, биологическое и хозяйственное

значение. Данный признак важен как для сбора нектара, особенно для культур, у которых