

УДК 616.937: 576.89: 636.1: 57.084.1
МРНТИ 34.33.23: 68.41.55
https://doi.org/10.52269/22266070_2024_2_19

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КАМЕРЫ ГОРЯЕВА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ TRYPANOSOMA EQUIPERDUM У ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Крыкбаев Е.А. – обучающийся докторантуры по специальности «8D09101» – Ветеринарная медицина, старший научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.*

Кондыбаев А.Б. – PhD, старший научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.

Джунисбаева С.М. – PhD, научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.

Ахметжанова М.Н. – обучающийся докторантуры по специальности «8D09101» – Ветеринарная медицина, научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.

В данной статье отражены результаты исследований возможности использования камеры Горяева для определения концентрации паразитемии штамма *Trypanosoma equiperdum* у лабораторных животных, как одного из быстрых и удобных методов для определения кинетики накопления. В результате исследований установлено, что камеру Горяева рекомендуется использовать при минимальном разведении биологических образцов (кровь) 1:100, и применение увеличения микроскопа 1x40 может использоваться как метод определения динамики накопления штамма *Trypanosoma equiperdum* у лабораторных животных, позволяя определить концентрацию трипаносом в различные этапы паразитемии, начиная от первых дней заражения и обнаружения единичных трипаносом, и заканчивая последними днями заражения при высокой концентрации и разведением 1:200 и более. Исследование кинетики накопления трипаносом является актуальным вопросом, позволяющим оценить скорость паразитемии в лабораторных и промышленных условиях, а также позволяя организовать производство диагностических тест-систем и наборов.

В исследовании применялись паразитологические методы заражения и оценки кинетики накопления трипаносом.

Практическая значимость исследования связана с возможностью применения представленного метода в производственных условиях накопления трипаносом как на лабораторных животных (мыши, крысы), так и на целевых животных (лошади, ослы).

Ключевые слова: паразитология, интенсивность инвазии, концентрация, камера Горяева, *Trypanosoma equiperdum*, микроскопия, кинетика накопления.

ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЖАНУАРЛАРДАҒЫ TRYPANOSOMA EQUIPERDUM КОНЦЕНТРАЦИЯСЫН АНЫҚТАУ ҮШІН ГОРЯЕВ КАМЕРАСЫН ПАЙДАЛАНУ

Крыкбаев Е.А. – "8d09101" – Ветеринариялық медицина мамандығы бойынша докторантурада оқитын, аға ғылыми қызметкер, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.*

Кондыбаев А. Б. – PhD, аға ғылыми қызметкер, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.

Джунисбаева С. М. – PhD, ғылыми қызметкер, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.

Ахметжанова М. Н. – "8d09101" мамандығы бойынша докторантурада оқитын – Ветеринариялық медицина, ғылыми қызметкер, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.

Бұл мақалада жинақтау кинетикасын анықтаудың жылдам және ыңғайлы әдістерінің бірі ретінде зертханалық жануарлардағы *trypanosoma equiperdum* штаммының паразитемия концентрациясын анықтау үшін Горяев камерасын пайдалану мүмкіндігін зерттеу нәтижелері көрсетілген. Зерттеулер нәтижесінде Горяев камерасын 1:100 биологиялық үлгілерді (қанды) минималды сұйылту кезінде қолдану ұсынылады және 1x40 микроскопты үлкейтуді қолдану зертханалық жануарларда *Trypanosoma equiperdum* штаммының жинақталу динамикасын анықтау әдісі ретінде пайдаланылуы мүмкін, бұл трипаносомалардың концентрациясын анықтауға мүмкіндік береді. инфекцияның алғашқы күндерінен бастап паразитемияның әртүрлі кезеңдерінде және жалғыз трипаносомаларды анықтауда. инфекцияның соңғы күндерімен жоғары концентрациямен және 1:200 немесе одан да көп сұйылтумен аяқталады. Трипаносомалардың жинақталу кинетикасын

зерттеу зертханалық және өндірістік жағдайларда паразитемия жылдамдығын бағалауға, сондай-ақ диагностикалық тест жүйелері мен жиынтықтарын өндіруді ұйымдастыруға мүмкіндік беретін өзекті мәселе болып табылады.

Зерттеуде инфекцияның паразитологиялық әдістері және трипаносомалардың жинақталу кинетикасын бағалау қолданылды.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы зертханалық жануарларда (тышқандар, егеуқұйрықтар) және мақсатты жануарларда (жылқылар, есектер) трипаносомалардың жинақталуының өндірістік жағдайында ұсынылған әдісті қолдану мүмкіндігімен байланысты.

Түйінді сөздер: паразитология, инвазия қарқындылығы, концентрация, Горяев камерасы, *Trypanosoma equiperdum*, микроскопия, жинақтау кинетикасы.

UTILIZATION OF GORYAEV CHAMBER TO DETERMINE THE CONCENTRATION OF TRYPANOSOMA EQUIPERDUM IN LABORATORY ANIMALS

Krykbayev Y.A.* – PhD student, “8D09101 – Veterinary Medicine” educational program, Senior Researcher, Research and Production Enterprise “Antigen” LLP, Abai village, Republic of Kazakhstan.

Kondybayev A.B. – PhD, Senior Researcher, Research and Production Enterprise “Antigen” LLP, Abai village, Republic of Kazakhstan.

Dzhunisbayeva S.M. – PhD, Researcher, Research and Production Enterprise “Antigen” LLP, Abai village, Republic of Kazakhstan.

Akhmetzhanova M.N. – PhD student, “8D09101 – Veterinary Medicine” educational program, Researcher, Research and Production Enterprise “Antigen” LLP, Abai village, Republic of Kazakhstan.

This article reflects the results of studies on the possibility of using the Goryaev chamber to determine concentration of parasitemia of the *Trypanosoma equiperdum* strain in laboratory animals, as one of the quick and convenient methods for determining the accumulation kinetics. The research findings revealed that the Goryaev camera is recommended to be used with a minimum dilution of biological samples (blood) of 1:100, and the use of 1x40 microscope magnification can be used as a method for determining the accumulation dynamics of the *Trypanosoma equiperdum* strain in laboratory animals, allowing one to determine the concentration of trypanosomes at various stages of parasitemia, starting from the first days of infection and the detection of single trypanosomes, and ending with the last days of infection at high concentrations and dilutions of 1:200 or more. The study of the kinetics of trypanosome accumulation is a pressing issue, allowing assessing the rate of parasitemia in laboratory and industrial conditions, as well as organizing the production of diagnostic test systems and kits.

The study used parasitological methods of infection and assessment of the kinetics of trypanosome accumulation.

The practical significance of the study is associated with the possibility of using the presented method in industrial conditions of accumulation of trypanosomes both in laboratory animals (mice, rats) and in target animals (horses, donkeys).

Key words: parasitology, infection intensity, concentration, Goryaev chamber, *Trypanosoma equiperdum*, microscopy, accumulation kinetics.

Введение. Трипаносомы – одноклеточные простейшие жгутиковые паразиты класса кинетопластид. В Республике Казахстан встречаются возбудители случной болезни однокопытных (*T. equiperdum*) и сура лошадей и верблюдов (*T. evansi*). Случную болезнь вызывает *Trypanosoma Equiperdum* подрода *Trypanozoon*. В отличие от других трипаносом, случная болезнь передается через коитус с инфицированной лошадей, а не через насекомых-переносчиков [1, с. 7]. Таким образом, было обнаружено, что случная болезнь распространена по всему миру, за пределами пояса цеце в Африке к югу от Сахары [2, с. 5]. Всемирная организация здравоохранения животных (ВОАН) внесла случную болезнь в список болезней животных международного значения. Исследование концентрации трипаносом позволит в будущем разработать математические модели кинетики накопления в лабораторных и промышленных условиях, для производства диагностических тест-систем и наборов.

Для подсчета трипаносом был разработан ряд методов, каждый из которых имеет свои преимущества и ограничения. Mills [3, с. 5] представил цитофлуорометрический метод с использованием окрашивания акридиновым оранжевым, который был эффективен для *T. congolese* как в отдельных образцах, так и в цельных образцах крови. Ormerod [4, с. 7] разработал метод подсчета трипаносом в крови на агаровой пленке, позволяющий одновременно изучать их морфологию. Noguera [5, с. 7] предложил математическо-морфологический подход для автоматического подсчета амастигот *T. cruzi*, который оказался эффективным и точным. Herbert [6, с. 3] описал быстрый метод «сопоставления» для оценки паразитемии хозяина при трипаносомных инфекциях, который был эффективен в широком диапазоне уровней паразитемии.

Takagi [7, с. 5] разработал систему подсчета клеток паразитов *Trypanosoma* на основе движения, позволяющую точно оценивать плотность клеток и выявлять эффекты лечения лекарствами. Эта система также позволила оценить количество паразитов в совместной культуре с клетками млекопитающих-хозяев. Coelho [8, с. 4] сообщил о первой встрече *Trypanosoma* sp. у бесхвостых видов *Rhinella major*, что подчеркивает необходимость дальнейших исследований взаимоотношений паразит-хозяин. Kobayashi [9, с. 3] идентифицировал последовательности трипаносомы у клещей и слепней, что указывает на возможность анализа вирома для обнаружения этих паразитов у членистоногих.

В недавних исследованиях был изучен ряд методов диагностики трипаносомы. McClean [10, с. 3] подчеркивает разработку специфичного для линии экспресс-диагностического теста для резервуарных хозяев *Trypanosoma cruzi* II/VI, а Desquesnes [11, с. 8] представляет всесторонний обзор методов диагностики трипаносомозов у животных, включая обнаружение паразитов, ДНК и антител. Mulenga [12, с. 7] сравнивает эффективность микроскопии и ПЦР при обнаружении трипаносом в крови крупного рогатого скота и обнаруживает, что ITS-PCR-FTA обладает лучшей специфичностью и чувствительностью, чем другие методы. Эти исследования в совокупности подчеркивают важность точных и надежных диагностических инструментов для эпиднадзора и борьбы с трипаносомозом.

Фенотипический анализ, основанный на подсчете жизнеспособных клеток, играет важную роль в технологических этапах производства иммунобиологических препаратов, вакцин и диагностических тест-систем. Для анализа подсчета клеток в светлом поле были разработаны, коммерциализированы и внедрены в лабораторные условия различные автоматизированные системы подсчета, такие как TC20™ (Bio-Rad, Калифорния, США), Countess® (Thermo Fisher Scientific, Массачусетс, США), Luna™ (Logos Biosystem, Кёнгидо, Южная Корея), анализатор Cedex HiRes (Roche, Базель, Швейцария), Cellometer™ (Nexcelom Bioscience, Массачусетс, США) и Vi-CELL® (Beckman Coulter, Калифорния, США). Однако они подходят для круглых, рассредоточенных типов клеток, такие как перевиваемые и первично трипсинизированные клетки млекопитающих, а также некоторых одноклеточных организмов, как дрожжи, и плохо адаптированных или склонных к агрегации клеток. Некоторые инструменты оснащены программным обеспечением декластеризации для обнаружения и разделения скоплений клеток на захваченном изображении, но по-прежнему не могут различить плотно агрегированные клетки и имеют тенденцию неправильно интерпретировать границы тонких или неправильных форм клеток.

Коммерчески и свободно доступные системы подсчета на основе изображений не могут распознать агрегаты паразитов, особенно при высокой плотности клеток, поэтому агрегаты необходимо разбить энергичным пипетированием или встряхиванием, прежде чем образец будет нанесен на предметное стекло. Это проблематично при фенотипическом скрининге, где типичным форматом работы являются 96- или даже 384-луночные планшеты. Другой аспект подсчета эписмастигот включает подвижность клеток. Поскольку эписмастигота шевелится и плавает с помощью жгутиков, подсчет клеток вручную обычно включает их фиксацию. Коммерческие системы подсчета клеток не обязательно требуют такой предварительной обработки, но, тем не менее, они используют захваченное неподвижное изображение для подсчета отдельных клеток. Этот подход может привести к потере потенциально ценной двигательной информации при фенотипическом анализе.

Обработка методов использования камеры Горяева позволит экономически выгодно и быстро определить концентрацию трипаносом как у лабораторных животных (мыши, крысы, кролики), так и на целевых животных (лошади, ослы).

Целью наших исследований было определение возможности использования камеры Горяева как метода контроля концентрации трипаносом в различные фазы паразитемии, позволяя анализировать критические точки и факторы роста.

Исходя из вышеизложенного, **задачей исследования** является определение методики использования камеры Горяева, с оценкой эффективности в различных образцах крови лабораторных животных.

Материалы и методы исследований. Научные исследования проводились в лаборатории «Паразитология» Научно-производственного предприятия «Антиген», в период с 2023 по 2024 годы.

Штамм *Trypanosoma equiperdum* Doflein получен из Американской коллекции типовых культур ATCC №30822. Является одним из видов, принадлежащих к роду *Trypanosoma*, семейству *Trypanosomatidae*. *Trypanosoma equiperdum* обладает небольшим размером и специфической морфологией. Он имеет типичную форму трепонемы и состоит из длинного тела, известного как лейшмания, и свободно двигающегося жгутика, который позволяет ему перемещаться в организме своего хозяина. *Trypanosoma equiperdum* является генетическим вариантом *Trypanosoma brucei*.

В исследовании применялась 4-х сеточная камера Горяева, позволяющая работать с 4 образцами одновременно.

Камера имеет следующие характеристики (Рисунок 1):

Размеры малого квадрата камеры Горяева $0,05 \times 0,05$ мм.

Размеры большого квадрата камеры Горяева $0,2 \times 0,2$ мм.

Глубина камеры $0,1$ мм.

Объем жидкости под 1 малым квадратом $0,00025$ мм³ (мкл) = $1/4000$ мм³ (мкл).

Объем жидкости под 1 большим квадратом $0,004$ мм³ (мкл) = $1/250$ мм³ (мкл).

Объем камеры Горяева $0,9$ мм³ (мкл).

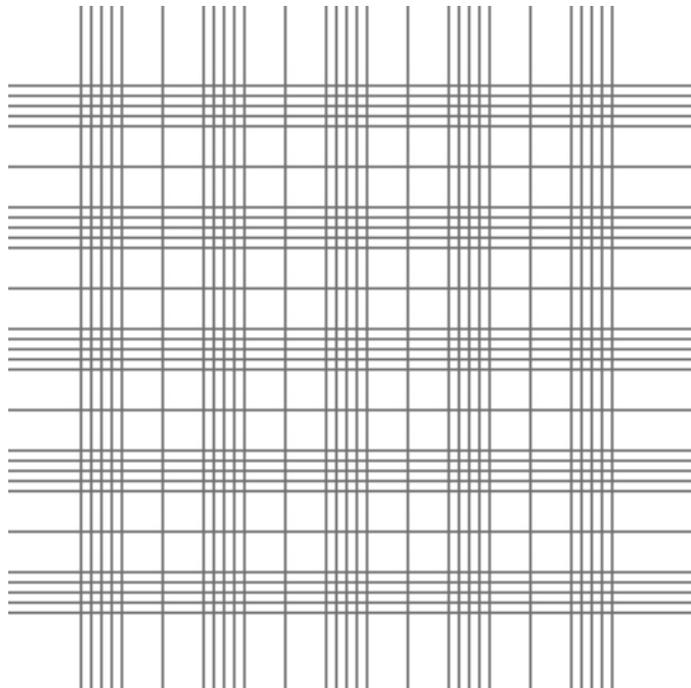


Рисунок 1. Сетка камеры Горяева

Для исследований чаще всего используются квадраты представленные в рисунке 2.

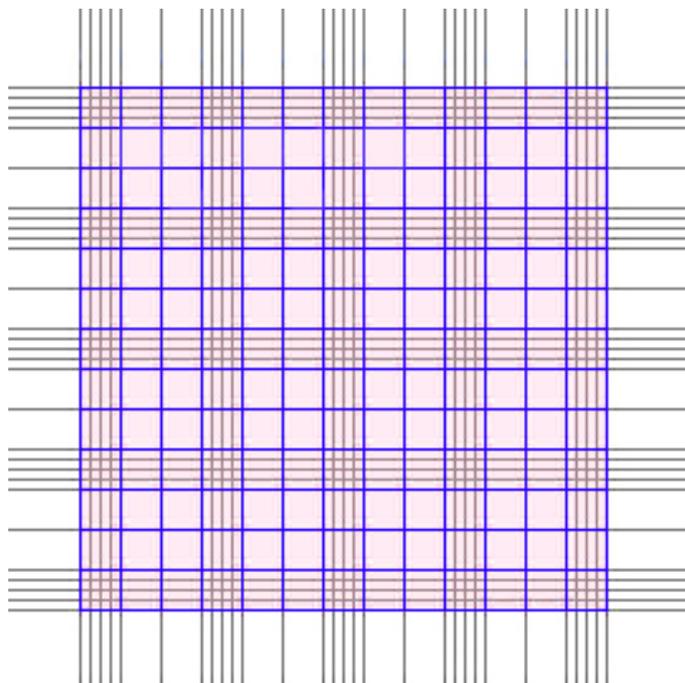


Рисунок 2. Исследуемые квадраты камеры Горяева

Для нашего исследования были выбраны 64 больших квадрата (Рисунок 3).

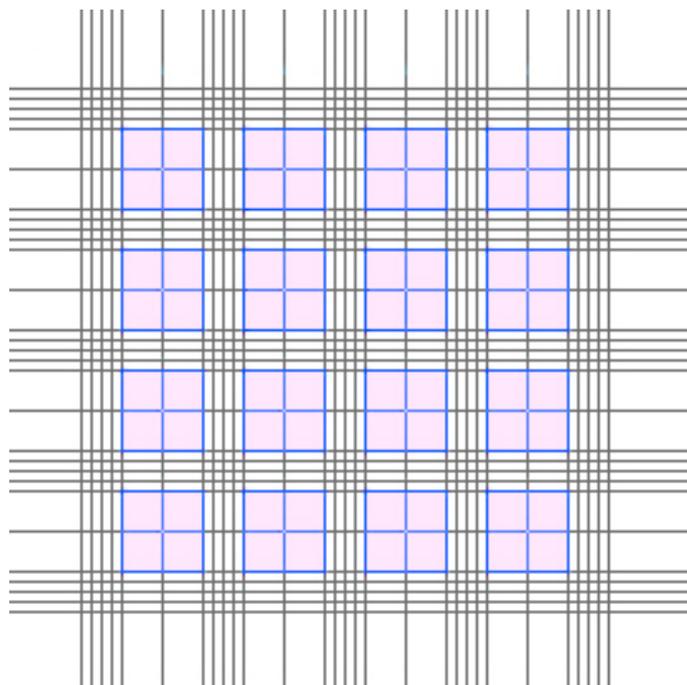


Рисунок 3 – предлагаемые для исследования квадраты

Данные 64 квадрата были выбраны по причине высокой подвижности трипаносом, и меньших рисков не заметить некоторые малоподвижные объекты.

В исследовании применялись белые лабораторные мыши, массой 14-16 г., свободные от других паразитарных инфекций. В ходе исследования было использовано 120 белых лабораторных мышей, а также было исследовано более 500 проб крови.

Методика

Камера Горяева подготавливалась согласно стандартным процедурам, с последующим притиранием предметного стекла до появления колец Ньютона (Рисунок 4).

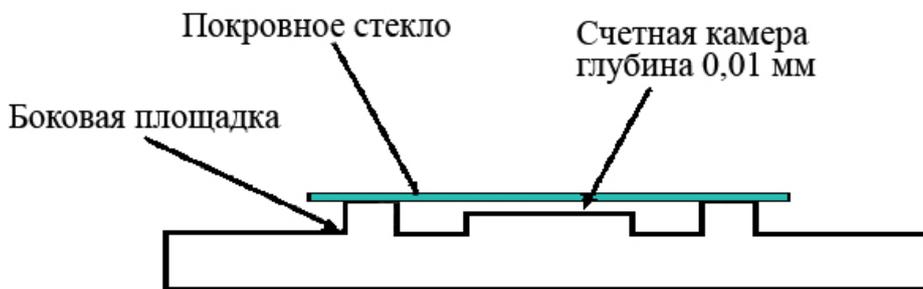


Рисунок 4 – Схема готовой к работе камеры Горяева.

Подготовка проб крови производилась подрезанием кончика хвоста мышей, для получения как минимум 1 мкл крови, что позволяет в дальнейшем ее исследовать.

При высокой концентрации трипаносом проводится разведение образцов (1x100, 1x200, 1x300, 1x400 и т.д.).

Концентрация трипаносом определялась согласно следующей формуле:

$$x = \frac{a * 4000 * b}{c}$$

где: x – концентрация трипаносом

a – количество посчитанных трипаносом

b – степень разведения биологического образца (крови)

c – количество посчитанных квадратов сетки камеры Горяева

По окончанию работ, камера Горяева дезинфицировалась погружением на 30 минут в 70% спиртовой раствор.

Результаты и обсуждение

У белых лабораторных мышей производился отбор проб крови из кончика хвоста. В ходе исследования было определено, что образец крови должен быть разведен не менее чем 1:100, так как большая концентрация форменных элементов крови не позволяет видеть сетку камеры Горяева (Рисунок 5, 6).

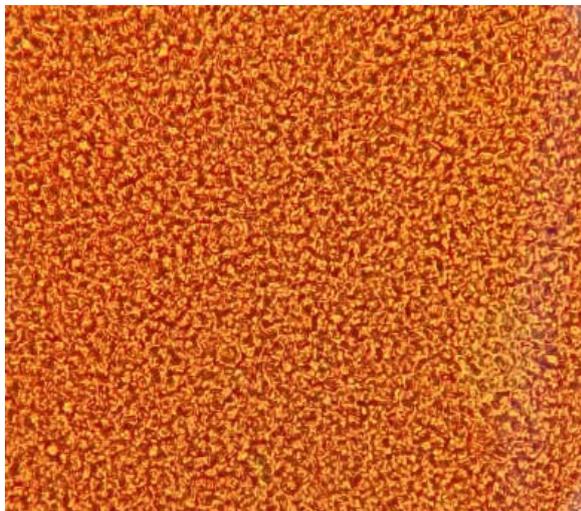


Рисунок 5 – сетка камеры Горяева без разведения образца крови

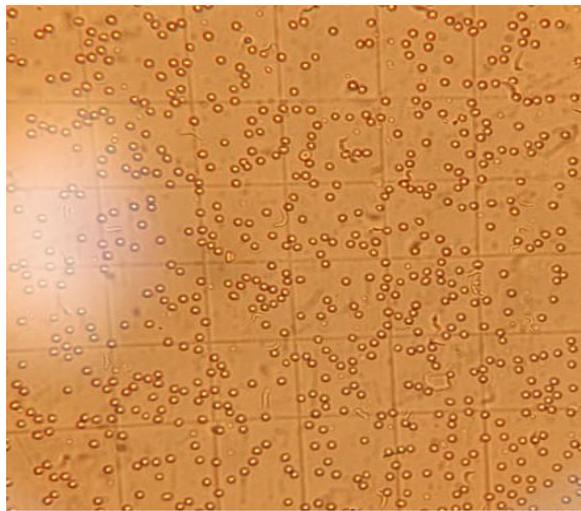


Рисунок 6 – сетка камеры Горяева после разведения образца крови 1:100

Разведение образцов крови является обязательным условием дальнейших исследований.

В ходе исследований нами было определено наиболее оптимальное увеличение микроскопа. Так при увеличении $\times 10$ сложно вести подсчет трипаносом, из-за их маленького размера, а также из-за плохой видимости сетки камеры Горяева (Рисунок 7, 8).

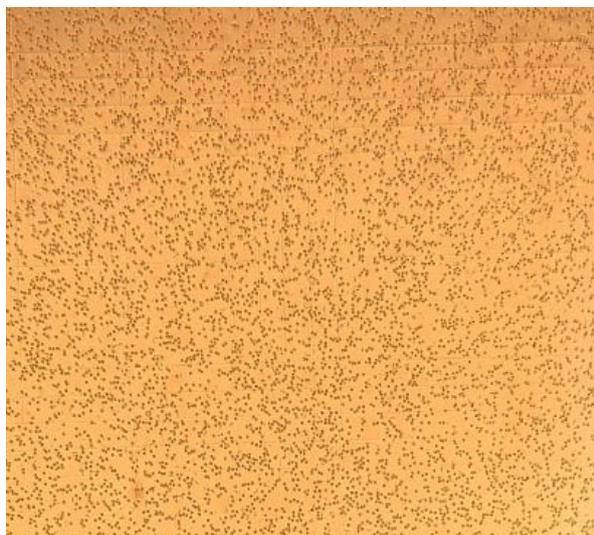


Рисунок 7 – микроскопия камеры Горяева при увеличении $\times 10$

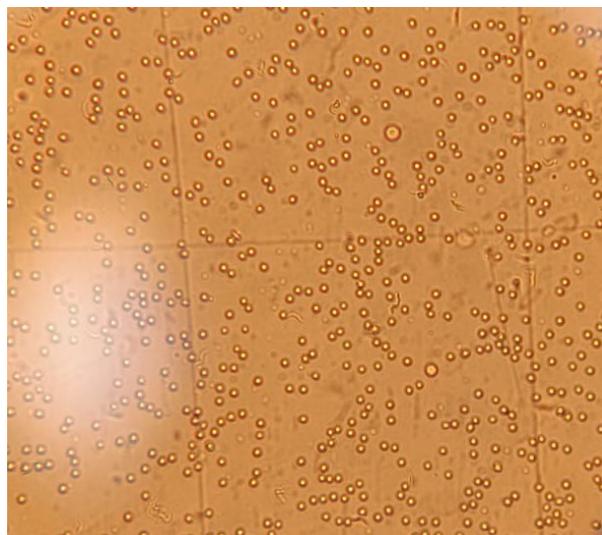


Рисунок 8 – микроскопия камеры Горяева при увеличении $\times 40$

После определения разведения образцов и увеличения микроскопа, нами велся подсчет трипаносом. Для более легкого подсчета трипаносом были выбраны большие квадраты, так как они позволяют более тщательно анализировать подвижность трипаносом (Рисунок 9). Согласно правилу Егорова, в квадрате считаются трипаносомы, лежащие внутри него, а также касающиеся левой и верхней границ. Трипаносомы касающиеся правой и нижней границ при подсчете не учитываются (Рисунок 10).

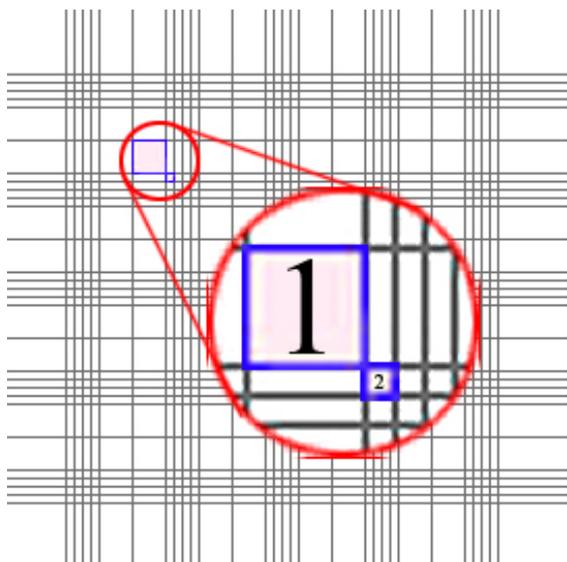


Рисунок 9 – Большой и малый квадрат сетки камеры Горяева

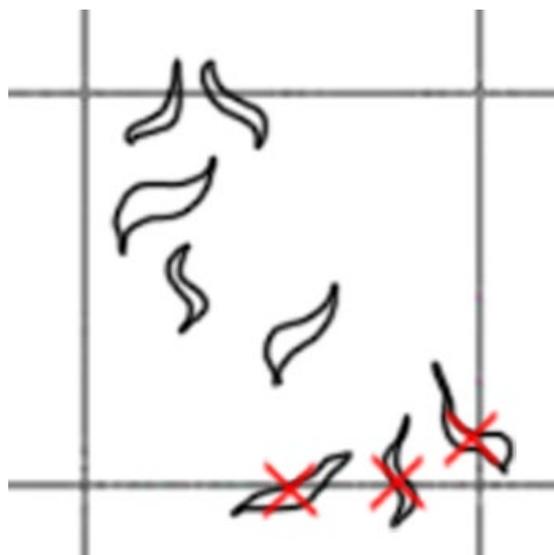


Рисунок 10 – правила подсчет трипаносом

Традиционно для исследования наличия и оценки уровня паразитемии используется метод придавленной капли (Рисунок 11). Данный метод имеет несколько больших недостатков, связанных в первую очередь с высокой погрешностью подсчета. При использовании метода придавленной капли, исследователем невозможно контролировать объем образца крови находящийся в поле зрения, трудно вести подсчет трипаносом учитывая высокую концентрацию форменных элементов крови и их расположение, также из-за неоднородности образцов крови, трипаносомы и элементы крови находятся многослойно, что также мешает подсчету. В ходе проведения исследований, камерой Горяева исследовались лабораторные мыши находящиеся в различные уровни паразитемии. Так согласно полученным результатам камеру Горяева можно использовать уже на 2 сутки после заражения, в сетке обнаруживаются единичные трипаносомы (Рисунок 12). С последующим ежедневным увеличением концентрации трипаносом (Рисунок 13). Также стоит отметить, что при достижении большой концентрации трипаносом, подсчет ведется уже на сотни, что в дальнейшем вызывает необходимость разведения образцов крови 1:200 и более (Рисунок 14).

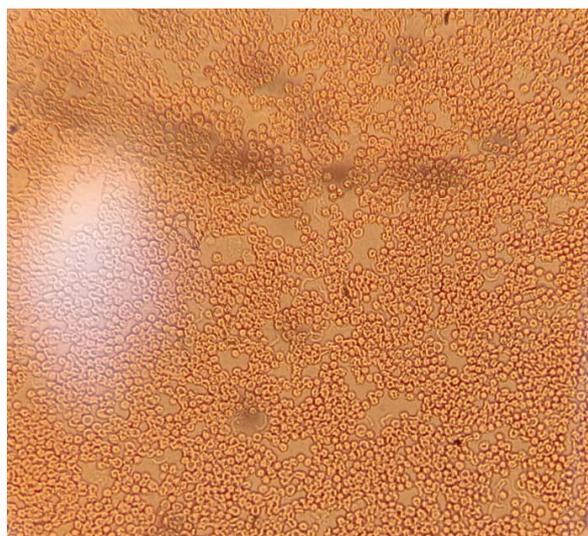


Рисунок 11 – образец крови при микроскопии методом придавленной капли

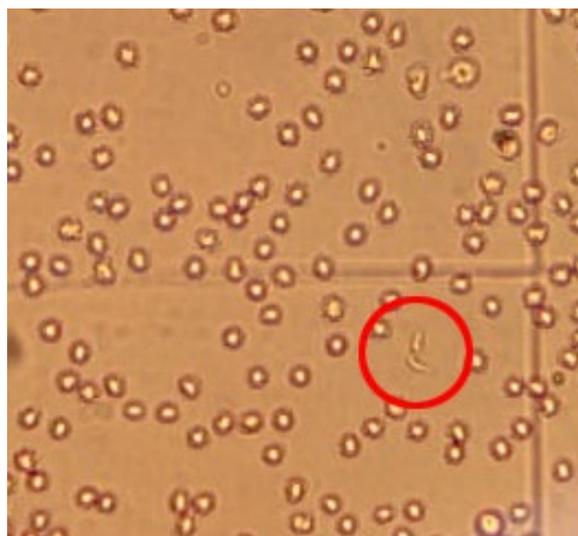


Рисунок 12 – единичные трипаносомы в первые сутки паразитемии, разведение 1:100

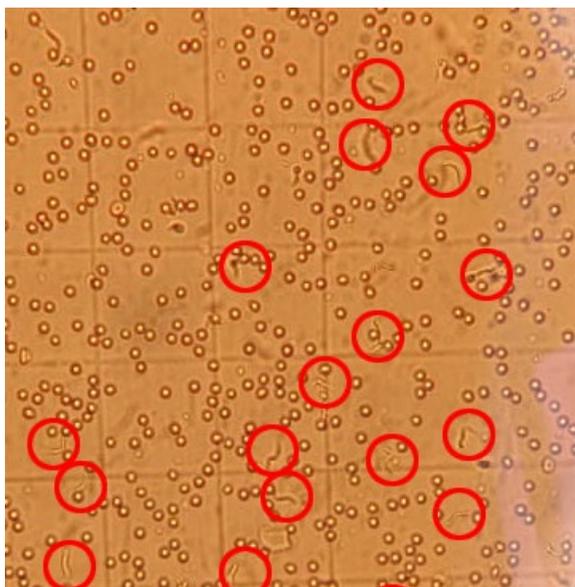


Рисунок 13 – множество трипаносом в активной фазе трипаносом, разведение 1:100

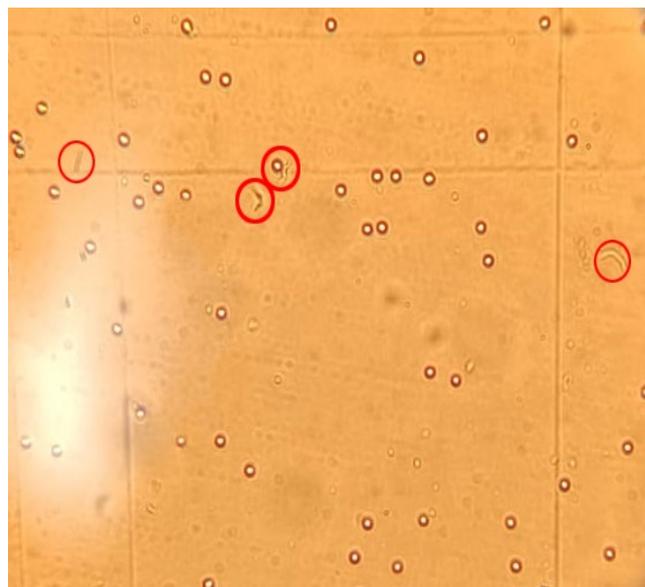


Рисунок 14 – трипаносомы в активной фазе, разведение 1:200

Как видно на представленных рисунках, концентрацию трипаносом можно достаточно точно определить как в различных уровнях паразитемии, так и в различные стадии их роста и накопления, что позволит оценить их кинетику у лабораторных мышей.

Выводы

В результате исследования по возможности использования камеры Горяева для определения концентрации *Trypanosoma equiperdum* у лабораторных животных установлено:

1. Наиболее оптимальным увеличением микроскопа является 1x40.
2. Минимальный уровень разведения образцов крови лабораторных животных является 1:100 и более, так как большая концентрация форменных элементов крови не позволяет видеть сетку камеры Горяева.
3. С помощью данной методики можно контролировать и анализировать уровень паразитемии, позволяя достаточно точно определить концентрацию трипаносом, и составить в будущем кинетику накопления.

Финансирование

Исследования проведены в рамках реализации проекта № AP19576636 конкурса на грантовое финансирование молодых ученых по научным и (или) научно-техническим проектам на 2023-2025 годы, Комитет науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Araujo, N. A., Rincón, M., Vonasek, E., Calabokis, M., Bubis, J. **Biochemical characterization of the cAMP-dependent protein kinase regulatory subunit-like protein from *Trypanosoma equiperdum*, detection of its inhibitory activity, and identification of potential interacting proteins** – [Text] / N. A. Araujo, M. Rincón, E. Vonasek, M. Calabokis, J. Bubis // Biochimie. – 2020. – 168. – 110-123 p.
2. Brun, R., Hecker, H., Lun, Z. R. ***Trypanosoma evansi* and *T. equiperdum*: distribution, biology, treatment and phylogenetic relationship (a review)** [Text] / R. Brun, H. Hecker, Z. R. Lun // Veterinary parasitology. – 1998. – 79(2). – 95–107 p.
3. Mills, J. N., Valli, V. E. **A cytofluorometric method of counting trypanosomes** [Text] / J. N. Mills, V. E. Valli // Tropenmedizin und Parasitologie. – 1978. – 29(1). – 95-100 p.
4. Ormerod, W. E., Healey, P., Armitage, P. **A method of counting trypanosomes allowing simultaneous study of their morphology** [Text] / W. E. Ormerod, P. Healey, P. Armitage // Experimental Parasitology. – 1963. – 13(3). – 386-394 p.
5. Noguera, J. L. V., Ayala, H. L., Schaerer, C. E., Rolon, M. **Mathematical morphology for counting *Trypanosoma cruzi* amastigotes** [Text] / J. L. V. Noguera, H. L. Ayala, C. E. Schaerer, M. Rolon // 2013 XXXIX Latin American Computing Conference (CLEI). – 2013. – IEEE. 1-12 p.
6. Herbert, W. J., Lumsden, W. H. R. ***Trypanosoma brucei*: a rapid “matching” method for estimating the host's parasitemia** [Text] / W. J. Herbert, W. H. R. Lumsden // Experimental parasitology. – 1976. – 40(3). – 427-431 p.

7. Takagi, Y., Nosato, H., Doi, M., Furukawa, K., Sakanashi, H. Development of a motion-based cell-counting system for *Trypanosoma* parasite using a pattern recognition approach [Text] / Y. Takagi, H. Nosato, M. Doi, K. Furukawa, H. Sakanashi // *Biotechniques*. – 2019. – 66(4). – 179-185 p.
8. Coelho, T. A., SOUZA, D. C., Kawashita-Ribeiro, R. A., Corrêa, L. L. First record of *Trypanosoma* sp.(Kinetoplastea: Trypanosomatidae) parasiting *Rhinella major* in the Brazilian Amazon [Text] / T. A. Coelho, D. C. SOUZA, Kawashita-Ribeiro R. A., L. L. Corrêa // *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. – 2021. – 93. – e20190467 p.
9. Kobayashi, D., Faizah, A. N., Amoa-Bosompem, M., Watanabe, M., Maekawa, Y., Hayashi, T., Isawa, H. Analysis of *Trypanosoma* sequences from *Haemaphysalis flava* (Acari: Ixodidae) and *Tabanus rufidens* (Diptera: Tabanidae) collected in Ishikawa, Japan [Text] / D. Kobayashi, A. N. Faizah, M. Amoa-Bosompem, M. Watanabe, Y. Maekawa, T. Hayashi, H. Isawa // *Medical Entomology and Zoology*. – 2020. – 71(4). – 279-288 p.
10. McClean, M. C., Bhattacharyya, T., Mertens, P., Murphy, N., Gillemann, Q., Gustin, Y., Miles, M. A. A lineage-specific rapid diagnostic test (Chagas Sero K-SeT) identifies Brazilian *Trypanosoma cruzi* II/V/VI reservoir hosts among diverse mammalian orders [Text] / M. C. McClean, T. Bhattacharyya, P. Mertens, N. Murphy, Q. Gillemann, Y. Gustin, M. A. Miles // *PLoS One*. – 2020. – 15(1). – e0227828 p.
11. Desquesnes, M., Gonzatti, M., Sazmand, A., Thévenon, S., Bossard, G., Boulangé, A., Berthier, D. A review on the diagnosis of animal trypanosomoses [Text] / M. Desquesnes, M. Gonzatti, A. Sazmand, S. Thévenon, G. Bossard, A. Boulangé, D. Berthier // *Parasites & Vectors*. – 2022. – 15(1). – 64 p.
12. Mulenga, G. M., Namangala, B., Chilongo, K., Mubamba, C., Hayashida, K., Henning, L., Gummow, B. Challenges in the diagnostic performance of parasitological and molecular tests in the surveillance of African trypanosomiasis in eastern Zambia [Text] / G. M. Mulenga, B. Namangala, K. Chilongo, C. Mubamba, K. Hayashida, L. Henning, B. Gummow // *Tropical Medicine and Infectious Disease*. – 2021. – 6(2). – 68 p.

REFERENCES:

1. Araujo N.A., Rincón M., Vonasek E., Calabokis M., Bubis J. Biochemical characterization of the cAMP-dependent protein kinase regulatory subunit-like protein from *Trypanosoma equiperdum*, detection of its inhibitory activity, and identification of potential interacting proteins. *Biochimie*, 2020, 168, pp. 110-123.
2. Brun R., Hecker H., Lun Z.R. *Trypanosoma evansi* and *T. equiperdum*: distribution, biology, treatment and phylogenetic relationship (a review). *Veterinary parasitology*, 1998, 79(2), pp. 95–107.
3. Mills J.N., Valli V. E. A cytofluorometric method of counting trypanosomes. *Tropenmedizin und Parasitologie*, 1978, 29(1), pp. 95-100.
4. Ormerod W.E., Healey P., Armitage P. A method of counting trypanosomes allowing simultaneous study of their morphology. *Experimental Parasitology*, 1963, 13(3), pp. 386-394.
5. Noguera J. L.V., Ayala H. L., Schaerer C. E., Rolon M. Mathematical morphology for counting *Trypanosoma cruzi* amastigotes. *2013 XXXIX Latin American Computing Conference (CLEI)*, 2013, IEEE, pp. 1-12.
6. Herbert W.J., Lumsden W.H.R. *Trypanosoma brucei*: a rapid “matching” method for estimating the host's parasitemia. *Experimental parasitology*, 1976, 40(3), pp. 427-431.
7. Takagi Y., Nosato H., Doi M., Furukawa K., Sakanashi H. Development of a motion-based cell-counting system for *Trypanosoma* parasite using a pattern recognition approach. *Biotechniques*, 2019, 66(4). pp. 179-185.
8. Coelho T.A., Souza D.C., Kawashita-Ribeiro R.A., Corrêa L.L. First record of *Trypanosoma* sp.(Kinetoplastea: Trypanosomatidae) parasiting *Rhinella major* in the Brazilian Amazon. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2021, 93, e20190467.
9. Kobayashi D., Faizah A.N., Amoa-Bosompem M., Watanabe M., Maekawa Y., Hayashi T., Isawa H. Analysis of *Trypanosoma* sequences from *Haemaphysalis flava* (Acari: Ixodidae) and *Tabanus rufidens* (Diptera: Tabanidae) collected in Ishikawa, Japan. *Medical Entomology and Zoology*, 2020, 71(4), pp. 279-288.
10. McClean M.C., Bhattacharyya T., Mertens P., Murphy N., Gillemann Q., Gustin Y., Miles M. A. A lineage-specific rapid diagnostic test (Chagas Sero K-SeT) identifies Brazilian *Trypanosoma cruzi* II/V/VI reservoir hosts among diverse mammalian orders. *PLoS One*, 2020, 15(1), e0227828.
11. Desquesnes M., Gonzatti M., Sazmand A., Thévenon S., Bossard G., Boulangé A., Berthier D. A review on the diagnosis of animal trypanosomoses. *Parasites & Vectors*, 2022, 15(1), 64 p.
12. Mulenga G. M., Namangala B., Chilongo K., Mubamba C., Hayashida K., Henning L., Gummow B. Challenges in the diagnostic performance of parasitological and molecular tests in the surveillance of African trypanosomiasis in eastern Zambia. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 2021, 6(2), 68 p.

Сведения об авторах:

Крыкбаев Еркин Алийбекович* – обучающийся докторантуры по специальности «8D09101» – Ветеринарная медицина, старший научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл. Карасайский район пос. Абай, ул. Азербайева 4, тел.: +77023654304, e-mail: krykbaev_e@mail.ru.

Кондыбаев Аскар Болатович – PhD, старший научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл. Карасайский район пос. Абай, ул. Азербайева 4, тел.: +7777319388, e-mail: askond@gmail.com.

Джунисбаева Сымбат Мелисовна – PhD, научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл. Карасайский район пос. Абай, ул. Азербайева 4, тел.: +77079675840, e-mail: symbata.dm@mail.ru.

Ахметжанова Мольдир Нурлановна – PhD докторант, научный сотрудник, ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл. Карасайский район пос. Абай, ул. Азербайева 4, тел.: +77471195351, e-mail: a.moldir.88@mail.ru.

Крыкбаев Еркин Алийбекович* – "8D09101" – Ветеринариялық медицина мамандығы бойынша докторантурада оқитын, аға ғылыми қызметкер, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан Республикасы, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай кенті, Әзірбаев көшесі 4, тел.: +77023654304, e-mail: krykbaev_e@mail.ru.

Кондыбаев Аскар Болатович – PhD, аға ғылыми қызметкер, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан Республикасы, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай кенті, Әзірбаев көшесі 4, тел.: + 7777319388, e-mail: askond@gmail.com.

Джунисбаева Сымбат Мелисовна – PhD, ғылыми қызметкер, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан Республикасы, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай кенті, Әзірбаев көшесі 4, тел.: + 77079675840, e-mail: symbata.dm@mail.ru.

Ахметжанова Мольдир Нурлановна – PhD докторант, ғылыми қызметкер, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан Республикасы, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай кенті, Әзірбаев көшесі 4, тел.: + 77471195351, e-mail: a.moldir.88@mail.ru.

Krykbayev Yerkin Aliibekovich* – PhD student, "8D09101" – Veterinary Medicine" educational program, Senior Researcher, Scientific and Production Enterprise "Antigen" LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasai district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +77023654304, e-mail: krykbaev_e@mail.ru.

Kondybayev Askar Bolatovich – PhD, Senior Researcher, Scientific and Production Enterprise "Antigen" LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasai district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +7777319388, e-mail: askond@gmail.com.

Dzhunisbayeva Symbat Melisovna – PhD, Researcher, Scientific and Production Enterprise "Antigen" LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasai district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +77079675840, e-mail: symbata.dm@mail.ru.

Akhmetzhanova Moldir Nurlanovna – PhD student, Researcher, Scientific and Production Enterprise "Antigen" LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasai district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +77471195351, e-mail: a.moldir.88@mail.ru.

УДК 636.21:618.2(574.13)-005.4

МРНТИ 68.41.31

https://doi.org/10.52269/22266070_2024_2_28

РОЛЬ АЛИМЕНТАРНОГО ФАКТОРА В ФЕРТИЛЬНОСТИ МОЛОЧНЫХ КОРОВ

Тегза А.А.* – доктор ветеринарных наук, профессор кафедры «Ветеринарной медицины», НАО «Костанайский региональный университет имени Ахмет Байтұрсынұлы», Республика Казахстан.

Тегза И.М. – кандидат сельскохозяйственных наук, и.о. ассоциированного профессора кафедры «Продовольственной безопасности и биотехнологии», НАО «Костанайский региональный университет имени Ахмет Байтұрсынұлы», Республика Казахстан.

Жилайтис В. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Клиника незаразных болезней, г. Каунас, Литва.

Ахметчина Т.А. – магистр биологии, старший преподаватель кафедры ТИПФКиС, НАО «Костанайский региональный университет имени Ахмет Байтұрсынұлы», Республика Казахстан.