

MOLECULAR GENETIC METHODS OF DIAGNOSIS OF DERMANISSIOSIS

A. N. Prytychenko¹, A. N. Yefimov², M. A. Yemelyanov¹,
A. V. Prytychenko³

¹ – RUE «Experimental Scientific Station for Poultry farming»
Zaslavl, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 223036, Zaslavl,
2a Yubileynaya St.; e-mail: bievmvitebsk@gmail.com);

² – University of the National Academy of Sciences of Belarus
Minsk, Republic of Belarus (Republic of Belarus, Minsk, 38B Radial St.;
e-mail: alexandrefimovmnsk@icloud.com);

³ – EI «Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine»
Vitebsk, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 210026, Vitebsk,
7/11 Dovator's 1st St.; e-mail: vit.nauka@gmail.com)

Key words: *dermanissiosis, chickens, red chicken mite, molecular genetic diagnostics.*

Summary. *The article presents current data on molecular genetic methods for the diagnosis of dermanissiosis, their advantages over classical approaches, and discusses the prospects for their implementation in clinical and veterinary practice.*

(Поступила в редакцию 19.06.2025 г.)

Введение. Дерманиссиозы – группа паразитарных болезней, вызываемых клещами родов *Dermanyssus*, *Ornithonyssus* и другими, которые поражают как животных, так и человека. Эти эктопаразиты не только вызывают дерматиты и аллергические реакции, но и могут служить переносчиками бактериальных, вирусных и риккетсиозных инфекций, что делает их диагностику важной задачей в медицине и ветеринарии. Традиционные методы обнаружения клещей, такие как микроскопия и морфологический анализ, обладают существенными ограничениями: они трудоемки, требуют высокой квалификации специалиста, в определенной степени субъективны и зачастую недостаточно чувствительны при низкой интенсивности инвазии. Кроме того, морфологическая идентификация близкородственных видов может быть затруднена из-за сходства их внешних признаков. Серологические методы, в свою очередь, не всегда обеспечивают достаточную специфичность и не позволяют провести точную видовую дифференциацию. В связи с этим все большую актуальность приобретают молекулярно-генетические методы диагностики, основанные на анализе ДНК. Полимеразная цепная реакция (ПЦР), изотермальная амплификация (LAMP, RPA), секвенирование нового поколения (NGS) и другие современные подходы обеспечивают высокую специфичность, чувствительность и возможность массового скрининга. Эти технологии позволяют не только идентифицировать

возбудителя на видовом уровне, но и выявлять генетические вариации, устойчивость к акарицидам и сопутствующие патогены.

Цель работы – систематизировать современные данные о молекулярно-генетических методах диагностики дерманиссиозов, оценить их преимущества перед классическими подходами и рассмотреть перспективы внедрения в клиническую и ветеринарную практику.

Материал и методика исследований. Материалом для исследования послужили новейшие публикации, материалы интернет-ресурса, результаты научных исследований, посвященные диагностике дерманиссиозов птиц и человека. Методы исследования – анализ, синтез, обобщение, анализ источников.

Традиционные методы. Диагностика дерманиссиоза, вызываемого клещами родов *Dermanyssus*, *Ornithonyssus* и другими, долгое время основывалась на классических методах, которые, несмотря на свою проверенную временем надежность, обладают рядом существенных ограничений. Основным подходом остается микроскопическая идентификация морфологических признаков клещей, включая размеры тела, форму хелицер, структуру кутикулы и особенности щетинок. Этот метод требует высокой квалификации специалиста, т. к. многие виды клещей имеют схожие морфологические черты, а на ранних стадиях развития (например, у нимф) дифференциация еще более затруднена. Кроме того, микроскопия часто оказывается малоэффективной при малом количестве материала или при деформации образца во время забора. Серологические методы, такие как ИФА (иммуноферментный анализ), разрабатывались для выявления антител к клещевым антигенам в сыворотке крови пораженных птиц или человека. Однако их применение ограничено из-за перекрестных реакций с антигенами других паразитов, а также из-за вариабельности иммунного ответа у разных хозяев. Культуральные методы, подразумевающие выращивание клещей *in vitro*, технически сложны, требуют специфических условий и длительного времени, что делает их непрактичными для рутинной диагностики. Еще одной проблемой традиционных методов является их низкая чувствительность при скрытой форме или хроническом течении инвазии, когда количество паразитов в пробах минимально. Например, при исследовании соскобов кожи или перьевых фолликулов птиц клещи могут быть случайно пропущены из-за неравномерного распределения в материале. В случае дерманиссиоза у человека, когда клещи нередко покидают хозяина после питания, микроскопия и вовсе может дать ложноотрицательный результат. Все эти факторы подчеркивают необходимость внедрения более точных и чувствительных методов, таких как молекулярно-генетическая диагностика, которая позволяет преодолеть многие из перечисленных ограничений.

Молекулярно-генетическая диагностика дерматомикозов: методы ПЦР и их применение. В отличие от традиционной микроскопии ПЦР дает возможность идентифицировать патоген на уровне генетических маркеров, что особенно важно при скрытых формах инвазии или низкой численности паразитов в образце. Основными мишенями для амплификации служат консервативные участки генома, такие как ген 18S рибосомальной РНК (18S rRNA), цитохромоксидаза I (COI) или внутренние транскрибируемые спейсеры ITS1 и ITS2, которые обладают достаточной вариабельностью для видовой дифференциации, но при этом содержат консервативные участки для универсальных праймеров. Классическая ПЦР остается «золотым стандартом» в рутинной диагностике благодаря своей надежности и относительно низкой стоимости. Однако для повышения точности и скорости анализа в последние годы широко применяется ПЦР в реальном времени (qPCR), позволяющая не только детектировать ДНК возбудителя, но и количественно оценивать его нагрузку, что имеет ключевое значение при мониторинге эффективности акарицидной терапии. Важным направлением является разработка мультиплексных ПЦР-систем, одновременно выявляющих несколько видов клещей или сопутствующих патогенов (например, бактерий рода *Bartonella*). Однако такие методы требуют тщательной оптимизации во избежание перекрестных реакций.

Для полевых условий перспективны изотермальные методы амплификации, такие как LAMP (Loop-mediated isothermal amplification), не требующие сложного термостатирующего оборудования. В частности, LAMP-тесты для *Ornithonyssus sylviarum* демонстрируют сопоставимую с ПЦР чувствительность при использовании портативных детекторов, что делает их идеальными для скрининга в сельскохозяйственных предприятиях или дикой природе.

Секвенирование ДНК. Секвенирование ДНК стало золотым стандартом в молекулярной диагностике дерматомикозов, позволяя не только подтвердить наличие возбудителя, но и реконструировать его генетическую историю, выявляя скрытые эпидемиологические связи. В отличие от ПЦР, которая отвечает на вопрос «есть или нет», секвенирование дает развернутый ответ: «что именно и в каком контексте». Классический метод Сэнгера, несмотря на свою «возрастную» репутацию, остается востребованным для рутинного анализа конкретных генов-мишеней, таких как COI (цитохромоксидаза I) или ITS (внутренние транскрибируемые спейсеры), особенно когда требуется высокая точность чтения отдельных участков. Однако его ограниченная пропускная способность делает его малоприменимым для масштабных исследований, где на первый план выходят технологии высокопроизводительного секвенирования (NGS). NGS-платформы, такие как Illumina или Oxford Nanopore, совершили переворот в диагностике паразитарных инфекций. Они позволяют не

только идентифицировать клещей рода *Dermanyssus* или *Ornithonyssus* в клиническом материале, но и параллельно детектировать сопутствующие патогены – бактерии, вирусы или представителей царства Fungi, которые могут осложнять течение дерманиссиоза.

Одним из прорывных направлений стало использование портативных секвенаторов, таких как MinION. Их способность работать в полевых условиях, без сложной лабораторной инфраструктуры, открывает новые возможности для мониторинга вспышек дерманиссиоза в удаленных регионах.

Методы изотермальной амплификации (LAMP, RPA). В последние годы методы изотермальной амплификации, такие как LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) и RPA (Recombinase Polymerase Amplification), приобретают все большую популярность в диагностике паразитарных заболеваний, включая дерманиссиоз. Их ключевое преимущество перед классической ПЦР заключается в отсутствии необходимости в сложном термоциклирующем оборудовании – реакция проходит при постоянной температуре, что значительно упрощает процедуру, особенно в полевых условиях. LAMP основан на использовании 4-6 специфических праймеров, распознающих различные участки целевой ДНК, и фермента Bst-полимеразы с высокой процессивностью. Результат может быть визуализирован невооруженным глазом по помутнению раствора или с помощью интеркалирующих красителей. В контексте диагностики дерманиссиоза LAMP уже показал высокую эффективность для детекции клещей рода *Dermanyssus* – чувствительность метода достигает 10-100 копий ДНК, что сопоставимо с qPCR, но без необходимости дорогостоящего оборудования. RPA, в свою очередь, использует комбинацию рекомбиназ, однокитевых ДНК-связывающих белков и полимеразы. Этот метод особенно ценен для экспресс-диагностики: амплификация занимает 15-20 минут, а портативные тест-системы позволяют проводить анализ даже в условиях ограниченных ресурсов.

Мультиплексные и микрочиповые технологии. Значительный прогресс в диагностике дерманиссиоза связан с внедрением мультиплексных и микрочиповых технологий, позволяющих одновременно детектировать несколько видов клещей или их генетических маркеров в одной пробе. Эти методы особенно ценны в случаях сочетанных инвазий или при необходимости дифференциации морфологически схожих видов, таких как *Dermanyssus gallinae* и *Ornithonyssus sylviarum*. Мультиплексная ПЦР, в отличие от классической, использует несколько пар праймеров, специфичных к разным мишеням, что значительно сокращает время и затраты на анализ. Чувствительность такого подхода достигает 1-10 копий ДНК на реакцию, что критически важно для ранней диагностики при низкой паразитарной нагрузке. ДНК-микрочипы содержат сотни или тысячи зондов, иммобилизованных на твердой подложке, что

позволяет проводить масштабный скрининг на множество патогенов за один цикл гибридизации. В контексте дерматиссиоза это особенно полезно для эпизоотического и эпидемиологического мониторинга, где важно быстро идентифицировать не только основные виды клещей, но и редкие или emerging-патогены.

С помощью микрочипа удалось обнаружить рекомбинантные штаммы *Dermanyssus*, обладающие устойчивостью к акарицидам, что было невозможно при стандартном секвенировании.

В ближайшие годы можно ожидать появления коммерческих тест-систем, сочетающих мультиплексность с портативностью, что сделает молекулярную диагностику дерматиссиоза доступной даже для небольших лабораторий. Ключевое преимущество этих подходов – не только в высокой специфичности, но и в способности интегрировать данные о генетическом разнообразии паразитов, что открывает новые возможности для изучения их эволюции, резистентности и взаимодействия с хозяевами. Например, анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) с помощью микрочипов уже сейчас помогает прогнозировать вспышки дерматиссиоза в птицеводческих хозяйствах, основанный на выявлении генетических маркеров вирулентности.

Результаты исследований и их обсуждение. Практическое применение молекулярно-генетических методов диагностики дерматиссиоза в птицеводческих хозяйствах. Традиционная диагностика, основанная на микроскопии и визуальном обнаружении клещей, часто оказывается недостаточно эффективной, особенно при низкой интенсивности инвазии или на ранних стадиях инвазии. Внедрение молекулярно-генетических методов открывает новые возможности для мониторинга и контроля паразита, обеспечивая высокую специфичность даже в сложных условиях крупных птицефабрик. Одним из наиболее востребованных инструментов стала ПЦР-диагностика, позволяющая выявлять ДНК клещей в пробах, взятых из щелей клеточного оборудования, подстилки или даже в крови птиц при подозрении на системное воздействие паразита. ПЦР эффективно работает с деградировавшим материалом – например, в высохших пятнах крови или фрагментах хитина, что особенно актуально после обработки акарицидами. Важным преимуществом является возможность мультиплексного анализа, когда в одной реакции одновременно детектируются несколько видов клещей, а также патогены, которые они переносят (например, бактерии или вирусы, в том числе птичьего гриппа). Это позволяет не только подтвердить наличие паразита, но и оценить сопутствующие риски для здоровья поголовья.

Изотермальная амплификация (LAMP) не требует дорогостоящего термочиклера и может проводиться непосредственно на территории хозяйства. Это особенно ценно для оперативного принятия решений –

например, при подозрении на вспышку дерматиссиоза в инкубатории или родительском стаде. Технология уже апробирована в ряде европейских стран и показала сопоставимую с ПЦР чувствительность при работе с образцами пыли из птичников, где концентрация клещей может быть крайне низкой.

Для крупных предприятий, где важен не только факт наличия паразита, но и его генетическое разнообразие, перспективным инструментом становится высокопроизводительное секвенирование (NGS). Например, анализ полиморфизма генов COI или ITS помогает отслеживать источники заражения – будь то миграция клещей с дикими птицами, завоз инвазированного оборудования или устойчивые к акарицидам популяции. Такой подход уже используется в некоторых хозяйствах Нидерландов и Германии для составления «генетических паспортов» паразитов и разработки целевых схем обработок.

Перспективы развития молекулярно-генетической диагностики дерматиссиоза. Одним из наиболее многообещающих направлений является CRISPR-Cas-система, адаптированная для детекции патогенов. В отличие от традиционной ПЦР, CRISPR-диагностика позволяет выявлять специфические последовательности ДНК или РНК клещей без необходимости термоциклирования, что значительно сокращает время анализа и упрощает процедуру.

Еще одним прорывным направлением можно считать развитие портативных устройств для секвенирования. Их ключевое преимущество – возможность проведения полевых исследований в реальном времени с минимальной подготовкой проб. Это особенно актуально для мониторинга очагов дерматиссиоза в сельском хозяйстве или дикой природе, где оперативность диагностики критически важна. Появились научные работы, демонстрирующие успешное применение MinION для идентификации эктопаразитов, включая клещей, по их митохондриальным и рибосомным маркерам. Наряду с этим, активно развиваются методы изотермальной амплификации (LAMP, RPA), которые могут стать основой для создания экспресс-тестов, аналогичных тест-полоскам для ПЦР. Их главное достоинство – отсутствие необходимости в сложном лабораторном оборудовании, что делает их идеальными для использования в условиях ограниченных ресурсов.

Возрастает роль биоинформатики в обработке генетических данных. Машинное обучение и алгоритмы глубокого анализа последовательностей позволяют не только ускорить интерпретацию результатов NGS, но и выявлять ранее неизвестные генетические варианты клещей, связанные с вирулентностью или резистентностью к акарицидам. Например, нейросетевые модели могут прогнозировать распространение определенных гаплотипов в популяциях клещей на основе данных метагеномного секвенирования.

Важной тенденцией становится интеграция молекулярной диагностики в системы эпидемиологического надзора. Разработка мультиплексных платформ, способных одновременно детектировать дерманиссоидных клещей и их эндосимбионтов (например, *Borrelia*, *Rickettsia*), позволит комплексно оценивать риски для здоровья человека и животных. В перспективе это может привести к созданию глобальных баз данных, объединяющих генетическую информацию о паразитах с клиническими и экологическими параметрами, что существенно улучшит контроль над заболеваниями.

Заключение. Молекулярно-генетические методы диагностики дерманиссиоза открывают новые возможности в паразитологии, преодолевая ключевые ограничения классических подходов. Традиционная микроскопия, несмотря на свою доступность, остается субъективной и малоэффективной при низкой инвазии или необходимости точной видовой идентификации клещей. В отличие от нее, методы на основе амплификации нуклеиновых кислот, такие как ПЦР и изотермальная амплификация, обеспечивают высокую чувствительность даже при минимальном количестве патогена в образце, что особенно критично для ранней диагностики и контроля распространения инвазии. Применение секвенирования, включая высокопроизводительные технологии (NGS), позволяет не только детектировать известные виды *Dermanyssus* и *Ornithonyssus*, но и выявлять генетические вариации, что имеет значение для изучения эволюционной динамики и резистентности к акарицидам.

Важным направлением остается разработка экспресс-методов, таких как LAMP или RPA, которые могут быть адаптированы для полевых условий, сокращая время от забора материала до постановки диагноза. Это особенно актуально для эпизоотологического и эпидемиологического мониторинга, где скорость реакции напрямую влияет на эффективность мероприятий. Внедрение мультиплексных систем и микрочипов расширяет диагностический потенциал, позволяя одновременно тестировать образцы на несколько патогенов, что экономически оправдано в комплексных исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Новиков, П. В. Меры борьбы и профилактики с красным куриным клещом в промышленном птицеводстве / П. В. Новиков, Р. Т. Сафиуллин // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями. 2018. – № 19. – С. 361-363.
2. Красный куриный клещ – проблема промышленного птицеводства (обзор) / М. А. Емельянов [и др.]; Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеселского, Эпизоотология, иммунобиология, фармакология, санитария. БелНИИЭВ – 2024. – № 2. – С. 16-21.
3. Ятусевич, А. И. Меры борьбы с эктопаразитами куриных птиц: рекомендации / А. И. Ятусевич, А. А. Вербицкий, Е. В. Миклашевская; Витебская государственная академия ветеринарной медицины. – Витебск: ВГАВМ, 2019. – 15 с.

4. Understanding the biology and control of the poultry red mite *Dermanyssus gallinae*: a review / J. Pritchard [et al.] // *Avian Pathology*. – 2015. – Т. 44. – № 3. – С. 143–153. – DOI: 10.1080/03079457.2015.1030589.
5. Sárkány, P. Challenges of *Dermanyssus gallinae* in Poultry: Biological Insights, Economic Impact and Management Strategies / P. Sárkány, Z. Bagi, Á. Süli, S. Kusza // *Insects*. – 2025. – Т. 16. – № 1. – С. 89. – DOI: 10.3390/insects16010089.
6. Schreiter, R. Effects of the poultry red mite (*Dermanyssus gallinae*) load on the plumage condition in commercial laying hen farms / R. Schreiter, M. Herzog, M. Freick // *PLOS ONE*. – 2022. – Т. 17. – № 11. – С. e0277513. – DOI: 10.1371/journal.pone.0277513.

УДК 636.2034.636.087.7

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ВЫДЕЛЕННЫХ КУЛЬТУР *S. EPIDERMIDIS* И *E. COLI*

Т. М. Скудная, А. Г. Щепеткова, Л. С. Козел

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,

г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by)

Ключевые слова: условно-патогенная микрофлора, антибиотикочувствительность, стафилококк, кишечная палочка.

Аннотация. В статье приведены результаты изучения структуры условно-патогенной микрофлоры молочно-товарных ферм. Исследовали родовой и видовой состав микробиоты в смывах с поверхности кожи вымени и сосков, во влагалищных смывах, смывах со слизистой оболочки носа и задней стенки глотки, в молоке и смывах с объектов ферм для содержания крупного рогатого скота. В ходе проведения микробиологического исследования объектов ферм для содержания крупного рогатого скота установлена их высокая бактериальная обсемененность энтеробактериями, стафилококками, дрожжами и дрожжеподобными грибами. Исследование образцов биоматериала от животных показало, что в 90,1 % случаев выделялись *Escherichia coli* и *Staphylococcus epidermidis*. Изучена антибиотикочувствительность у 31 культуры *S. epidermidis* и 18 культур *E. coli*.

DETERMINATION OF ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF ISOLATED CULTURES OF *S. EPIDERMIDIS* AND *E. COLI*

T. M. Skudnaya, A. G. Shchepiatkova, L. S. Kozel

EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno,

28 Tereshkova st.; e-mail: ggau@ggau.by)

Key words: opportunistic microflora, antibiotic sensitivity, staphylococcus, *E. coli*.

Summary. The article presents the results of studying the structure of opportunistic microflora of dairy farms. The generic and species composition of microbiota