



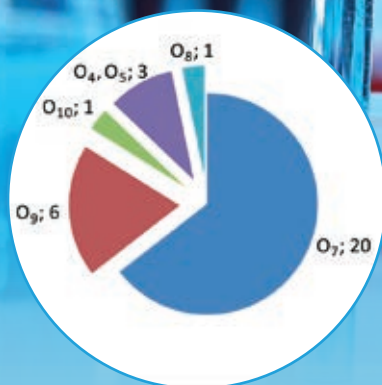
ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)
ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

РУССКО-АНГЛИЙСКИЙ
ЖУРНАЛ

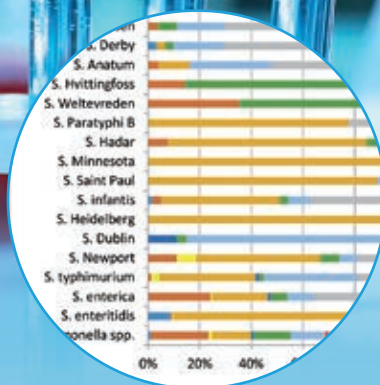
VETERINARY SCIENCE
TODAY

RUSSIAN-ENGLISH JOURNAL



ИДЕНТИФИКАЦИЯ
И АНТИБИОКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ
ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ РОДА
SALMONELLA
с. 3

IDENTIFICATION AND
ANTIMICROBIAL RESISTANCE
OF *SALMONELLA* ISOLATES
p. 8



АНАЛИЗ ВЫЯВЛЕНИЙ БАКТЕРИЙ
РОДА *SALMONELLA* В СТРАНАХ
ЕВРОПЕЙСКОГО СОЮЗА ПО
ДАННЫМ ИНФОРМАЦИОННОЙ
СИСТЕМЫ RASFF
с. 12

ANALYSIS OF *SALMONELLA* SPP.
DETECTIONS
IN EUROPEAN UNION COUNTRIES
ACCORDING TO RASFF DATABASE
p. 12



ГЕМАГГЛУТИНИРУЮЩИЕ
И АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА ИЗОЛЯТОВ
AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM,
ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
И РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
с. 31

HEMAGGLUTINATION
AND ANTIGENIC PROPERTIES OF
AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM
ISOLATES RECOVERED
IN THE RUSSIAN FEDERATION
AND REPUBLIC OF BELARUS
p. 31

Журнал «Ветеринария сегодня» включен
в Перечень рецензируемых научных
изданий (ВАК) по специальностям:
06.02.00 – ветеринария и зоотехния;
03.02.00 – общая биология.

Миссией издания является представление информации об основных направлениях развития ветеринарной науки и практики и привлечение внимания научных сообществ к актуальным проблемам и инновационным разработкам в области ветеринарии

The journal's mission is the delivery of information on basic development trends of veterinary science and practice and highlighting of vital issues and innovative developments in veterinary area for scientific community

**Главный редактор:**

Лозовой Дмитрий Анатольевич – кандидат ветеринарных наук, директор ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, тел./факс: 8 (4922) 26-15-73, e-mail: lozovoy@arriah.ru

Шеф-редактор: Юлия Мелано

Выпускающие редакторы: Ольга Лаврухина, Анастасия Мазнева

e-mail: vet_today@arriah.ru,

lavruhina@arriah.ru; 8 (4922) 26-15-12, доб. 22-27

Editor-in-Chief:

Dmitry A. Lozovoy – Candidate of Science (Veterinary Medicine), Director of the FGBI "ARRIAH", Vladimir
Tel/fax: 8 (4922) 26-15-73, e-mail: lozovoy@arriah.ru

Editorial Director: Julia Melano

Executive Editors: Olga Lavrukhina, Anastasia Mazneva

e-mail: vet_today@arriah.ru,

lavruhina@arriah.ru; 8 (4922) 26-15-12, ext. 22-27

Редакционный совет журнала «Ветеринария сегодня»:

Болдбаатар Базарцэрэн – доктор ветеринарных наук, Институт ветеринарной медицины, г. Улан-Батор, Монголия

Бучацкий Л. П. – доктор биологических наук, профессор, КНУ им. Тараса Шевченко, г. Киев, Украина

Гринь С. А. – доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ ВНИИБП, г. Щелково, Россия

Забережный А. Д. – доктор биологических наук, профессор, ВИЭВ им. Я. Р. Коваленко, г. Москва, Россия

Кузьмина Е. В. – доктор ветеринарных наук, Краснодарский НИВИ – обособленное структурное подразделение ФГБНУ КНЦЗВ, г. Краснодар, Россия

Ломако Ю. В. – кандидат ветеринарных наук, доцент, РУП ИЗВ им. С. Н. Вышелецкого, г. Минск, Беларусь

Мищенко Н. В. – доктор биологических наук, доцент, ВЛГУ им. А. Г. и Н. Г. Столетовых, г. Владимир, Россия

Настасиевич Иван – доктор ветеринарных наук, Институт гигиены и технологии мяса, Белград, Сербия

Недосеков В. В. – доктор ветеринарных наук, профессор, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина

Никитин И. Н. – доктор ветеринарных наук, ФГБОУ «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», Казань

Савченкова И. П. – доктор биологических наук, профессор, ВИЭВ им. Я. Р. Коваленко, г. Москва, Россия

Самарджия Марко – доктор ветеринарных наук, профессор, Загребский университет, г. Загреб, Хорватия

Соколович Марьяна – доктор ветеринарных наук, Хорватский ветеринарный институт – Птицеводческий центр, г. Загреб, Хорватия

Сулейманов С. М. – доктор ветеринарных наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, Воронежский ГАУ им. императора Петра I, г. Воронеж, Россия

Федотов С. В. – доктор ветеринарных наук, профессор, Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина, г. Москва, Россия

Чернов А. Н. – доктор биологических наук, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИИВ», г. Казань, Россия

Эрдэнэбаатар Жанчивдорж – доктор ветеринарных наук, Институт ветеринарной медицины, г. Улан-Батор, Монголия

Editorial council:

Boldbaatar Bazartseren – PhD/DVM, Leading Researcher, Laboratory Head, Institute of Veterinary Medicine, Ulan Bator, Mongolia

Buchatsky L. P. – Doctor of Science (Biology), Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

Grin S. A. – Doctor of Science (Biology), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Schelkovo, Russia

Zaberezhny A. D. – Doctor of Science (Biology), Professor, All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Medicine n. a. Ya. R. Kovalenko, Moscow, Russia

Kuzminova Ye. V. – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Krasnodar RIVM – economically autonomous structural subdivision of FGBNU KRCZVM, Krasnodar, Russia

Lomako Yu. V. – Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Research RUE Institute of the Experimental Veterinary Medicine of S. N. Vyshel'sky, Minsk, Belarus

Mischenko N. V. – Doctor of Science (Biology), Associate Professor, Vladimir State University n. a. A. G. and N. G. Stoletovs, Vladimir, Russia

Nastasijevic I. – PhD/DVM, Associate Director, Head of Technology Development and Transfer Department, Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Serbia

Nedosekov V. V. – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Nikitin I. N. – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Bauman Kazan State Academy of Veterinary Medicine, Kazan

Savchenkova I. P. – Doctor of Science (Biology), Professor, FGBRI All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Medicine n. a. Ya. R. Kovalenko, Moscow, Russia

Samardžija M. – PhD/DVM, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

Sokolovic M. – PhD/DVM, Professor, Deputy Laboratory Head/Deputy QM, CVI-Poultry Centre, Zagreb, Croatia

Suleymanov S. M. – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Honorary Scientist of the Russian Federation, Voronezh State Agrarian University n. a. Peter the First, Voronezh, Russia

Fedotov S. V. – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, K. I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia

Chernov A. N. – Doctor of Science (Biology), FGBRI Federal Centre for Toxicological, Radiological and Biological Safety, Kazan, Russia

Erdenebaatar Janchivdorj – PhD/DVM, Professor, Leading Researcher, Institute of Veterinary Medicine, Ulan Bator, Mongolia

Дизайн и верстка: Мария Бондарь
Корректор: Виктория Черепанова

Design and composition: Maria Bondar
Proof-reader: Victoria Cherepanova

Журнал «Ветеринария сегодня» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций, свидетельство о регистрации № ФС 77-49033 от 21 марта 2012 г.

The Journal "Veterinary Science Today" is registered in the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media Federal Service, Registration Certificate No FS 77-49033, March 21, 2012.

Научный журнал «Ветеринария сегодня» включен в информационно-аналитическую систему – Российский индекс научного цитирования (РИНЦ). Электронные версии журнала размещаются в полнотекстовом формате на сайте Научной электронной библиотеки eLIBRARY.RU. Зарегистрированный товарный знак, свидетельство № 514190

Scientific Journal "Veterinary Science Today" is included in the information analysis system – Russian Science Citation Index (RSCI). Full-text e-versions of the Journal are published on the website of the Scientific Electronic Library, eLIBRARY.RU. Registered trademark, certificate No 514190

Редакционная коллегия журнала «Ветеринария сегодня»:

Editorial Board:



Василевич Ф. И. — доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, ректор Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии им. К. И. Скрябина, г. Москва

Vasilyevich F. I. — Doctor of Science (Veterinary Medicine), Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, President of the K. I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow



Власов Н. А. — доктор биологических наук, профессор, зам. руководителя Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору, г. Москва

Vlasov N. A. — Doctor of Science (Biology), Professor, Deputy Head of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance, Moscow



Груздев К. Н. — доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Gruzdev K. N. — Doctor of Science (Biology), Chief Researcher, FGBI "ARRIAH", Vladimir



Гулюкин М. И. — доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, ФГБНУ ВИЭВ им. Я. Р. Коваленко, г. Москва

Gulyukin M. I. — Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honorary Scientist of the Russian Federation, FGBRI All-Russian Research Institute for Experimental Veterinary Medicine n. a. Ya. R. Kovalenko, Moscow



Иголкин А. С. — кандидат ветеринарных наук, зав. лабораторией ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Igolkin A. S. — Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of the Reference Laboratory, FGBI "ARRIAH", Vladimir



Ирза В. Н. — доктор ветеринарных наук, главный эксперт ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Irza V. N. — Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Expert, FGBI "ARRIAH", Vladimir



Красочко П. А. — доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор Витебской государственной академии ветеринарной медицины, г. Витебск, Республика Беларусь

Krasochko P. A. — Doctor of Science (Veterinary Medicine), Doctor of Science (Biology), Professor, Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Belarus



Макаров В. В. — доктор биологических наук, профессор, академик РАЕН, РУДН, г. Москва

Makarov V. V. — Doctor of Science (Biology), Professor, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, RUDN, Moscow



Метлин А. Е. — кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по НИР и развитию ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Metlin A. Ye. — Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Head for Research and Development, FGBI "ARRIAH", Vladimir



Мищенко В. А. — доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Mischenko V. A. — Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, FGBI "ARRIAH", Vladimir



Плющиков В. Г. — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, директор Аграрно-технологического института РУДН, г. Москва

Plyusnikov V. G. — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Director of Agrarian and Technological Institute, RUDN, Moscow



Прохватилова Л. Б. — кандидат биологических наук, доцент, начальник отдела координации НИР ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Prokhvatilova L. B. — Candidate of Science (Biology), Associate Professor, Head of the Department for Research Coordination, FGBI "ARRIAH", Vladimir



Прунтова О. В. — доктор биологических наук, профессор, главный эксперт ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Pruntova O. V. — Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Expert, FGBI "ARRIAH", Vladimir



Русалеев В. С. — доктор ветеринарных наук, профессор, ученый секретарь ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Russaleyev V. S. — Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Scientific Secretary, FGBI "ARRIAH", Vladimir



Самуйленко А. Я. — доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, ФГБНУ ВНИИТБП, г. Щелково

Samuylenko A. Ya. — Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, FGBNU VNITBP, Schelkovo



Сисягин П. Н. — доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ НИВИ НЗ России, г. Нижний Новгород

Sisyagin P. N. — Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, FGBNU NIVI NC Russia, Nizhny Novgorod



Старов С. К. — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник, заместитель директора по качеству ФГБУ «ВНИИЗЖ» (зам. глав. редактора), г. Владимир

Starov S. K. — Candidate of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Deputy Director for Quality, FGBI "ARRIAH", (Deputy Editor-in-Chief), Vladimir



Субботин А. М. — доктор биологических наук, профессор, помощник Президента Беларуси — инспектор по Витебской области

Subbotin A. M. — Doctor of Science (Biology), Professor, Aide to Belarus President — Vitebsk Oblast Inspector, Minsk, Belarus



Шахов А. Г. — доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, ГНУ «ВНИВМПФит», г. Воронеж

Shakhov A. G. — Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, RAS Associate Member, GNU VNIVIPAT RAAS, Voronezh

Тираж 2000 экземпляров. Цена свободная

Учредитель: ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Издатель: ООО «Да Винчи Медиа», 121069, г. Москва, ул. Поварская, д. 31/29, пом. VI, комн. 13

Адрес редакции: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Circulation: 2000. Price: unregulated

Establisher: FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH")

Publisher: ООО "Da Vinci Media", 121069, Moscow, Povarskaya st., 31/29, Facility VI, Room 13

Editorial Board Office: 600901, Vladimir, Yur'yevets, FGBI "ARRIAH"

Типография: ООО «Юнион Принт», 603022, Нижегородская область, г. Нижний Новгород, Окский съезд, д. 2, тел.: (831) 439-44-99

Подписано в печать 19 декабря 2018 года
Дата выхода 29.12.2018

Printing Office: ООО "Union Print", 603022, Nizhny Novgorod Oblast, Nizhny Novgorod, Oksky S'ezd, 2, tel: (831) 439-44-99

Approved for print 19 december 2018
Issued: 29.12.2018

СОДЕРЖАНИЕ

ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

3 Г. С. Скитович, Н. Б. Шадрова, О. В. Прунтова, К. В. Серова, С. Е. Шмайхель
ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ
БАКТЕРИЙ РОДА *SALMONELLA*

12 С. Е. Шмайхель, Н. Б. Шадрова
АНАЛИЗ ВЫЯВЛЕНИЙ БАКТЕРИЙ РОДА *SALMONELLA* В СТРАНАХ
ЕВРОПЕЙСКОГО СОЮЗА ПО ДАННЫМ ИНФОРМАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ RASFF

БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

21 Али Мазлум, Н. Г. Зиняков, А. С. Першин, И. В. Шевченко, И. Ю. Жуков,
Д. Н. Федосеева, Д. В. Шарыпова, А. С. Иголкин, Н. Н. Власова
АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И БИОЛОГИЧЕСКИХ
СВОЙСТВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ ПРИ АДАПТАЦИИ
К ПЕРЕВИВАЕМОЙ КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК

БОЛЕЗНИ ПТИЦ

26 М. А. Волкова, Ир. А. Чвала, П. С. Ярославцева,
В. Ю. Сосипаторова, И. А. Чвала
СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ
В РОССИИ ЗА 2017 Г.

31 А. В. Потехин, В. А. Евграфова, Д. Б. Андрейчук
ГЕМАГГЛЮТИНИРУЮЩИЕ И АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА ИЗОЛЯТОВ
AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

БИОТЕХНОЛОГИЯ

39 М. Н. Гусева, М. А. Шевченко, Д. В. Михалишин,
В. В. Михалишин, Б. Л. Манин
ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ ДИНАМИКИ
ТРАНСФОРМАЦИИ ДНК В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК ВНК-21/2-17
ПРИ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСА ЯЩУРА

44 Б. Л. Манин, Н. В. Коропова, В. А. Стариков, И. В. Вологина
ХРАНЕНИЕ ПОЧЕК ПОРОСЯТ ПРИ СУБНОРМАЛЬНЫХ
ТЕМПЕРАТУРАХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МОНОСЛОЯ ПЕРВИЧНО
ТРИПСИНИЗИРОВАННЫХ КЛЕТОК

ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

49 Махамат Нгуерабе Ямтитина, В. В. Макаров
ГЛОБАЛЬНАЯ ЭПИЗООТОЛОГИЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ.
1. ВОСПРИИМЧИВЫЕ ЖИВОТНЫЕ

53 М. А. Шибаяев, И. М. Клиновическая, А. С. Оганесян,
А. В. Бельчихина, А. К. Караулов
КАДРОВЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ
СЛУЖБЫ СУБЪЕКТОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

63 А. В. Шаталов, С. П. Данников, А. Н. Кононов, В. С. Скрипкин
ИММУНОПРОФИЛАКТИКА ПАРВОВИРУСНОГО ЭНТЕРИТА СОБАК

CONTENTS

VETERINARY MICROBIOLOGY

8 G. S. Skitovich, N. B. Shadrova, O. V. Pruntova, K. V. Serova, S. Ye. Shmaihel
IDENTIFICATION AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE
OF *SALMONELLA* ISOLATES

12 S. Ye. Smajhel, N. B. Shadrova
ANALYSIS OF *SALMONELLA* SPP. DETECTIONS
IN EUROPEAN UNION COUNTRIES ACCORDING TO RASFF DATABASE

PORCINE DISEASES

21 Ali Mazloum, N. G. Zinyakov, A. S. Pershin, I. V. Shevchenko, I. Yu. Zhukov,
D. N. Fedoseyeva, D. V. Sharypova, A. S. Igolkin, N. N. Vlasova
ANALYSIS OF CHANGES IN AFRICAN SWINE FEVER VIRUS GENETIC
STRUCTURE AND BIOLOGICAL PROPERTIES DURING ADAPTATION
TO CONTINUOUS CELL CULTURE

AVIAN DISEASES

26 M. A. Volkova, Ir. A. Chvala, P. S. Yaroslavtseva,
V. Yu. Sosipatorova, I. A. Chvala
SEROLOGICAL MONITORING OF NEWCASTLE DISEASE IN RUSSIA 2017

31 A. V. Potehin, V. A. Yevgrafova, D. B. Andreychuk
HEMAGGLUTINATION AND ANTIGENIC PROPERTIES OF *AVIBACTERIUM*
PARAGALLINARUM ISOLATES RECOVERED IN THE RUSSIAN FEDERATION
AND REPUBLIC OF BELARUS

BIOTECHNOLOGY

39 M. N. Guseva, M. A. Shevchenko, D. V. Mikhilishin,
V. V. Mikhilishin, B. L. Manin
STUDY OF DNA TRANSFORMATION DYNAMICS
IN BHK-21/2-17 CELL CULTURE USING FLOW CYTOMETRY
DURING FMD VIRUS REPRODUCTION

44 B. L. Manin, N. V. Koropova, V. A. Starikov, I. V. Vologina
STORAGE OF PIGLET KIDNEYS AT SUBNORMAL TEMPERATURES
FOR PRIMARY TRYPSINIZED CELL MONOLAYER PREPARATION

GENERAL ISSUES

49 Makhamat Nguerabe Yamtitina, V. V. Makarov
ANTHRAX GLOBAL EPIZOOLOGY. 1. SUSCEPTIBLE ANIMALS

53 M. A. Shibayev, I. M. Klinovitskaya, A. S. Oganessian,
A. V. Belchikhina, A. K. Karaulov
HUMAN RESOURCES CAPACITY OF NATIONAL VETERINARY SERVICES
IN RUSSIAN FEDERATION TERRITORIAL SUBJECTS

63 A. V. Shatalov, S. P. Dannikov, A. N. Kononov, V. S. Skripkin
IMMUNOPROPHYLAXIS OF CANINE PARVOVIRAL ENTERITIS

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ БАКТЕРИЙ РОДА *SALMONELLA*

Г. С. Скитович¹, Н. Б. Шадрова², О. В. Прунтова³, К. В. Серова⁴, С. Е. Шмайхель⁵

¹ Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: skitovich@arriah.ru

² Заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shadrova@arriah.ru

³ Главный эксперт ИАЦ, доктор биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: pruntova@arriah.ru

⁴ Ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: serova@arriah.ru

⁵ Ветеринарный врач, филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, Россия, e-mail: shmaihe@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты идентификации бактерий рода *Salmonella*, исследование выделенных изолятов на чувствительность к антибиотикам и определение серогрупповой и серовариантной принадлежности этих изолятов. За период с 2012 по 2017 г. проведено 13 774 исследования проб продуктов животного происхождения, выявлено 105 образцов, загрязненных бактериями рода *Salmonella*, что составляет 0,76% от общего числа исследованных проб. В результате выделен 31 изолят. Установлено, что 22 из них принадлежали к семи сероварам: *S. enteritidis*, *S. infantis*, *S. nigeria*, *S. montevideo*, *S. typhimurium*, *S. derby*, *S. meleagridis*. *S. infantis* (38,7%) и *S. enteritidis* (16,1%) идентифицированы как наиболее распространенные серовары. Отмечена тенденция к увеличению загрязненных образцов с 1,13% в 2012 г. до 2,84% в 2017 г. Проведенные исследования антибиотикорезистентности показали, что все изоляты обладали чувствительностью к антибиотикам группы карбапенемов (меропенем, имипенем), β-лактамов (амоксиклав/клавуланат), аминогликозидов (амикацин, гентамицин), макролидов (азитромицин). Большинство изолятов обладали чувствительностью к антибиотикам группы β-лактамов (цефтриаксон, цефотаксим), фторхинолонов (ципрофлоксацин) и группы аминогликозидов (канамицин). Устойчивость по крайней мере к одному антибиотику обнаружена у 12,9% (4/31) изолятов. Устойчивость по меньшей мере к трем противомикробным препаратам выявлена у 6,5% (2/31) изолятов. Множественной резистентностью (к четырем и более антибиотикам) обладали 58,1% (18/31) изолятов.

Ключевые слова: сальмонеллы, изоляты, продукты животного происхождения, серовар, антибиотикорезистентность.

ВВЕДЕНИЕ

Бактерии рода *Salmonella* представляют собой подвижные грамотрицательные палочки, принадлежащие к семейству *Enterobacteriaceae*. Согласно действующей номенклатуре, принятой Всемирной организацией здравоохранения и Американским микробиологическим обществом, на основе исследования ДНК-ДНК-гибридизации выделяют только два вида, входящие в род *Salmonella*: *S. enterica*, который содержит шесть подвигов, обозначенных римскими цифрами I–VI (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *S. enterica* subsp. *indica*), и *S. bongori*, содержащий один подвиг [13]. Большинство известных сероваров, которые вызывают заболевания у теплокровных животных и людей, относятся к виду *S. enterica* subsp. *enterica* [14]. Они являются зоонозными патогенами, диапазон животных – носителей которых достаточно высок. Сальмонеллы нетифоидной группы *S. enterica*, такие как *S. enterica* серовара *Typhimurium* и *S. enterica* серовара

Enteritidis, являются одними из основных возбудителей вспышек заболеваний пищевого происхождения во всем мире [12]. Причиной развития сальмонеллеза у человека является потребление загрязненной воды или пищи, такой как мясо, мясные продукты, продукты птицеводства, особенно яйца [15].

Несмотря на значительное усовершенствование технологий и требований по соблюдению гигиены на всех этапах производства продуктов животного происхождения, сальмонеллез остается постоянной угрозой для здоровья людей и животных. Больше того, количество заболеваний сальмонеллезом, в том числе в развитых странах, в последние годы возрастает. Это связано с появлением штаммов сальмонелл *S. typhimurium* и *S. enteritidis*, устойчивых к современным антибиотикам, и распространением этих штаммов по всему миру. Кроме того, сальмонеллез вызывают такие серовары, как *S. panama*, *S. infantis*, *S. newport*, *S. agona*, *S. derby* и *S. london*.

В последние годы европейское законодательство выдвинуло требования о контроле использования противомикробных препаратов для продуктивных животных, тем не менее наблюдается значительное увеличение возникновения резистентности у сальмонелл, передаваемых алиментарно [3, 4]. В ветеринарной практике антибиотики применяют для терапевтических целей, профилактики, а также для стимулирования роста (кормовые добавки). Особую озабоченность вызывает развитие устойчивости к эффективным препаратам с широким спектром действия, таким как фторхинолоны, все большее число изолятов проявляет снижение чувствительности к ципрофлоксацину [9, 11] и β -лактамам [5, 6, 8]. Также растет количество изолятов, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью, часто к семи или более антибиотикам. В настоящее время все чаще регистрируется нетифоидный сальмонеллез со множественной лекарственной устойчивостью.

Целью нашей работы было выделение из образцов продукции животного происхождения бактерий рода *Salmonella*, определение их серогрупповой и серовариантной принадлежности, а также изучение антибиотикорезистентности выделенных изолятов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культуры бактерий. В работе использовали 31 изолят бактерий рода *Salmonella*, выделенных из сырья животного происхождения при проведении микробиологических исследований в 2017 г.

Для контроля качества бумажных дисков, пропитанных различными антибиотиками, использовали штамм № 25922 *Escherichia coli* (ATCC, США).

Микробиологический анализ образцов. Проводили в соответствии с ГОСТ 31659-2012 [1]. Навеску продукта массой (25 $\pm$ 0,1) г, подготовленную для исследования, вносили в стерильный пакет, содержащий 225 см³ забуференной пептонной воды (ЗПВ). Гомогенизировали в течение 1 мин и инкубировали при температуре (37 $\pm$ 1) °C в течение (18 $\pm$ 1) ч.

Реактивы и питательные среды. В данной работе использовали следующие реактивы: ЗПВ (HiMedia, Индия), магниевая среда Раппапорта – Вассилиадиса – RVS (Merck, Германия), селенистый накопительный бульон (Merck, Германия), триптоно-соевый агар – TSA (Scharlau, Испания), ксилозо-лизиновый дезоксиолатный агар – XLD (Оболонск, РФ), висмут-сульфитный

агар – VSA (Merck, Германия). Все питательные среды были приготовлены согласно инструкции изготовителя.

Серовариантный состав сальмонелл определяли с использованием поли- и моновалентных сывороток фирмы «Петсал» (РФ).

После этапа первичного обогащения по 1 см³ образца пересевали к 10 см³ RVS и 10 см³ селенистой среды. Посевы на RVS инкубировали при температуре (41,5 $\pm$ 1) °C в течение (24 $\pm$ 1) ч. Посевы на селенистой среде инкубировали при температуре (37 $\pm$ 1) °C в течение (24 $\pm$ 1) ч.

После инкубирования из каждой пробирки бактериологической петлей проводили высев штрихом на поверхность двух сред: VSA и XLD. Инкубировали при температуре (37 $\pm$ 1) °C в течение (24 $\pm$ 1) ч.

Принадлежность выросших колоний к бактериям рода *Salmonella* подтверждали посредством биохимических тестов API 20E (BioMerieux, France) и иммуноферментного анализа с использованием анализатора mini VIDAS. После идентификации изоляты хранили при –20 °C в соево-казеиновом бульоне, содержащем 15% глицерина.

Приготовление суспензии исследуемых микроорганизмов для определения антибиотикорезистентности. Для приготовления суспензии использовали суточную культуру микроорганизмов, выросшую на плотной питательной среде МПА. Петлей переносили несколько колоний в физиологический раствор, доводя оптическую плотность суспензии до 0,5 ед. по стандарту Мак-Фарланда. Готовую суспензию использовали в течение 15 мин после приготовления.

Антибиотики. В работе использовали стандартные бумажные диски со следующими антибиотиками: азитромицин (15 мкг/диск), канамицин (30 мкг/диск), налидиксовая кислота (30 мкг/диск), стрептомицин (10 мкг/диск), тетрациклин (30 мкг/диск), левофлоксацин (5 мкг/диск), амикацин (30 мкг/диск), амоксициллин (25 мкг/диск), сульфаметоксазол/триметоприм (23,75/1,25 мкг/диск), ампициллин (10 мкг/диск), амоксициллин/клавуланат (20/10 мкг/диск), гентамицин (10 мкг/диск), доксициклин (30 мкг/диск), цефтриаксон (30 мкг/диск), цефотаксим (30 мкг/диск), левомицетин (30 мкг/диск), имипенем (10 мкг/диск), меропенем (10 мкг/диск), ципрофлоксацин (5 мкг/диск). Все бумажные диски, содержащие антибиотики, – производства ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, РФ.

Определение антибиотикорезистентности. Чувствительность изолятов бактерий рода *Salmonella* к антибиотикам изучали по общепринятым утвержденным методическим рекомендациям [2, 7, 10]. В стерильные чашки Петри диаметром 100 мм наливали по 20 мл расплавленного питательного агара TSA. Перед посевом поверхность среды подсушивали. Бактериальную суспензию в количестве 0,1 мл наносили на поверхность агара и равномерно распределяли шпателем, после чего стерильным пинцетом накладывали диски, пропитанные различными антибиотиками. В каждой чашке испытывали действие четырех антибиотиков. После аппликации дисков чашки Петри инкубировали при температуре 37 °C в течение 18–24 ч сверху дном. Оценку результатов проводили по наличию зон задержки роста микроорганизмов вокруг дисков. Отсутствие роста тест-организма на расстоянии более 10 мм от диска с антибиотиком указывало на чувствительность

Таблица 1
Выявление бактерий рода *Salmonella* из проб пищевых продуктов животного происхождения за период с 2012 по 2017 г.

Год	Кол-во исследований	Число положительных исследований	Процент положительных результатов
2012	2040	23	1,13
2013	3686	10	0,27
2014	2405	7	0,29
2015	2545	4	0,15
2016	2009	30	1,5
2017	1089	31	2,8
Всего	13 774	105	0,76

штамма. Если тест-организм развивался в непосредственной близости от диска, пропитанного антибиотиком, то данный микроорганизм оценивали как устойчивый к действию антибиотика. Диаметр зон задержки роста с учетом диаметра самого диска измеряли с точностью до 1 мм [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В период с 2012 по 2017 г. лаборатория микробиологических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ» проводила испытания образцов продукции животного происхождения по показателям безопасности в рамках выполнения «Плана государственного ветеринарного лабораторного мониторинга остатков запрещенных и вредных веществ в организме животных, продукции животного происхождения и кормах», планов государственных заданий и заявок от производителей пищевого сырья и продукции.

Определение бактерий рода *Salmonella* в таких видах продуктов, как мясо, мясные продукты, мясо птицы, регламентируется требованиями технических регламентов (ТР) Таможенного союза (ТС) – ТР ТС 034/2013, ТР ТС 021/2011. За указанный период выполнено 13 774 исследования по определению бактерий рода *Salmonella* и выявлено 105 положительных проб, что составляет 0,76% от общего числа исследований.

Анализ данных по обнаружению сальмонелл представлен в таблице 1, где отражена тенденция к увеличению количества изолятов *Salmonella* spp., полученных за последние три года. Бактерии рода *Salmonella* в 2017 г. выявляли в образцах пищевых продуктов животного происхождения в 11 раз чаще, чем в период с 2013 по 2015 г., и в 2 раза чаще, чем в 2016 г.

Большинство изолятов *Salmonella* выявлены в образцах таких продуктов, как мясо птицы, свинина, говядина, полуфабрикаты куриные и мясные, куриные субпродукты. Наибольшее количество изолятов (48,3%) получено при исследовании проб полуфабрикатов из мяса птицы (рис. 1).

При определении серогрупповой принадлежности полученных изолятов бактерий рода *Salmonella* за 2017 г. (рис. 2), показано, что большинство изолятов относится к группе O₇, также в продуктах животного происхождения выявлены сальмонеллы групп O₉ и O₄, O₅.

Доминирующими сероварами по количеству выявлений являются *S. enterica* серовара *Infantis* – 12 (38,7%) и *S. enterica* серовара *Enteritidis* – 5 (16,1%). Также определены серовары: *S. typhimurium*, *S. nigeria*, *S. montevideo*, *S. derby*, *S. meleagridis*. Установлено, что 9 (29%) изолятов нетипируемые.

В настоящее время основной проблемой в ветеринарии является широкое распространение резистентных форм патогенных микроорганизмов и вследствие этого снижение эффективности ряда антибиотиков.

Следующим этапом нашей работы было определение резистентности к антибиотикам 31 изолята бактерий рода *Salmonella*. В соответствии с «Методическими указаниями по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» микроорганизмы оценивали как чувствительные, резистентные и промежуточные по наличию зон задержки роста микроорганизмов вокруг дисков [2]. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Хинолоны и их производные представляют собой синтетические антибиотики, действие которых связано

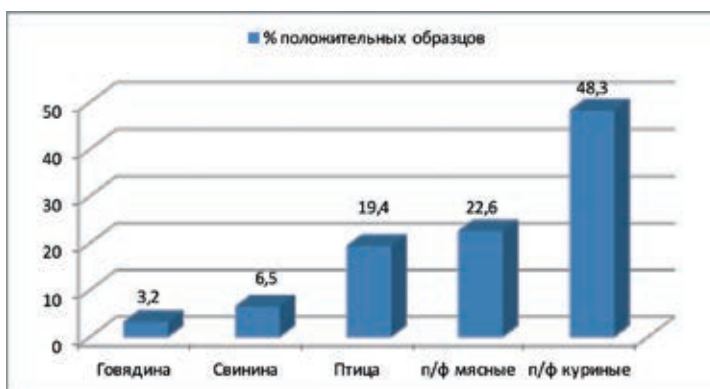


Рис. 1. Распределение частоты выявления сальмонелл в образцах различных видов продукции животного происхождения в 2017 г.

главным образом с предотвращением раскручивания и дублирования бактериальной ДНК. Данные препараты из-за их низкой токсичности часто используют для лечения серьезных инфекций животных, поэтому развитие резистентности к этим новым антибиотикам создает реальную опасность [13]. В представленной работе определена чувствительность к трем антибиотикам группы хинолонов и показано, что большая группа изолятов резистентна к налидиксовой кислоте (70,9%). Часть изолятов *S. infantis* (58,3%), изоляты сальмонелл других сероваров и нетипируемые сальмонеллы (42,9%) оказались резистентны к левофлоксацину. При этом все изоляты чувствительны к ципрофлоксацину.

Левомецитин – антибиотик широкого спектра действия, активен против грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. Длительное время его широко применяли для лечения сальмонеллеза у людей и животных. В настоящее время использование данного антибиотика ограничено из-за возникновения резистентности изолятов сальмонелл [13]. В нашем исследовании все изоляты показали чувствительность к левомецитину, кроме одного изолята *S. infantis*.

Все изоляты *S. enterica* серовара *Enteritidis* оказались чувствительны ко всем использованным в опыте антибиотикам, кроме налидиксовой кислоты. Резистентность к этому антибиотику показали четыре изолята (80%).

Изоляты *S. enterica* серовара *Infantis* проявили резистентность к стрептомицину (группа аминогликозидов) – 91,7%; доксициклину и тетрациклину (группа тетрациклинов) – по 91,7%. Кроме того, наблюдались различные уровни резистентности к левофлоксацину – 58,3% и налидиксовой кислоте – 83,3% (группа хи-

Рис. 2. Серогрупповая принадлежность изолятов *Salmonella* spp.

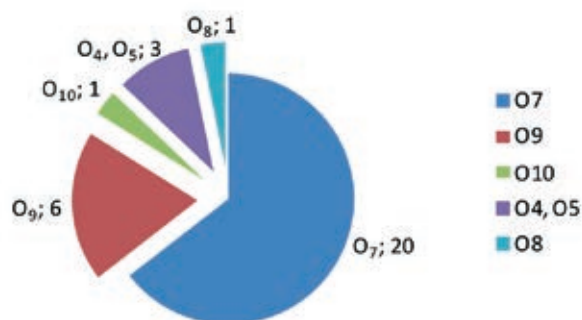


Таблица 2
Антибиотикорезистентность изолятов бактерий рода *Salmonella*
n = 31

Антибиотик	Диаметры зон подавления роста, мм			Изоляты, количество (%)								
				<i>S. enteritidis</i> (<i>n</i> = 5)			<i>S. infantis</i> (<i>n</i> = 12)			Другие и нетипируемые серотипы сальмонеллы (<i>n</i> = 14)		
	P ≤	П	Ч ≥	P ≤	П	Ч ≥	P ≤	П	Ч ≥	P ≤	П	Ч ≥
Амикацин	14	14–16	17	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Азитромицин	12	–	13	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Амоксициллин	13	14–16	17	–	–	5 (100)	1 (8,3)	–	11 (91,7)	1 (7,1)	–	13 (92,9)
Ампициллин	13	14–16	17	–	–	5 (100)	1 (8,3)	–	11 (91,7)	1 (7,1)	–	13 (92,9)
Амоксициллин/клавуланат	13	14–17	18	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Меропенем	13	14–15	16	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Имипенем	13	14–15	16	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Цефотаксим	14	15–22	23	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	1 (7,1)	13 (92,9)
Цефтриаксон	13	14–20	21	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	1 (7,1)	13 (92,9)
Гентамицин	12	13–14	15	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Канамицин	13	14–17	18	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	1 (7,1)	13 (92,9)
Левомецетин	12	13–17	18	–	–	5 (100)	1 (8,3)	–	11 (91,7)	–	–	14 (100)
Стрептомицин	11	12–14	15	–	–	5 (100)	11 (91,7)	–	1 (9,1)	7 (50)	3 (20)	4 (30)
Ципрофлоксацин	15	16–20	21	–	–	5 (100)	–	1 (8,3)	11 (91,7)	–	–	14 (100)
Тетрациклин	11	12–14	15	–	–	5 (100)	11 (91,7)	–	1 (8,3)	8 (57,1)	–	6 (42,9)
Доксициклин	10	11–16	14	–	–	5 (100)	11 (91,7)	–	1 (8,3)	8 (57,1)	–	6 (42,9)
Налидиксовая кислота	13	14–18	19	4 (80)	–	1 (20)	10 (83,3)	1 (8,3)	1 (8,3)	8 (57,1)	2 (14,2)	4 (26,7)
Левифлоксацин	23	–	24	–	–	5 (100)	7 (58,3)	–	5 (41,7)	6 (42,9)	–	8 (57,1)
Триметоприм/сульфаметоксазол	10	11–15	16	–	–	5 (100)	4 (33,3)	–	8 (66,7)	1 (7,1)	–	13 (92,9)
Резистентные к одному антибиотику				4 (80)			–			–		
Резистентные к четырем и более антибиотикам				–			11 (91,7)			7 (50)		

P ≤ – резистентные; П – промежуточные; Ч ≥ – чувствительные.

нолонов); триметоприму/сульфаметоксазолу – 33,3% (группа полимиксинов), а также по одному изоляту *S. infantis* были резистентны к амоксициллину и ампициллину (группа β-лактамов) и левомецетину. В то же время изоляты этого серовара были чувствительны к антибиотикам из группы карбапенемов (меропенем, имипенем), β-лактамов (амоксициллин/клавуланат, цефотаксим, цефтриаксон), аминогликозидов (амикацин, гентамицин, канамицин), макролидов (азитромицин) и хинолонов (ципрофлоксацин) (табл. 2).

Частичную резистентность изоляты сальмонелл других сероваров и нетипируемые сальмонеллы проявляли по отношению к стрептомицину (50%) и лево-

флоксацину (42,9%). Больше половины изолятов (57,1%) были резистентны в отношении антибиотиков тетрациклинового ряда: доксициклину и тетрациклину, а также, как уже сказано выше, к налидиксовой кислоте.

Необходимо отметить, что большинство исследуемых изолятов (58,1%) устойчивы одновременно к нескольким (четырем и более) антибиотикам, проявляя так называемую множественную резистентность. В таблице 3 показаны различные профили антимикробной резистентности выделенных изолятов.

Из таблицы 3 видно, что четыре изолята *S. enterica* серовара *Infantis* резистентны к шести (12,9%) и один – к семи антибиотикам (3,2%).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполнения данной работы проведено 13 774 исследования и выявлено 105 (0,76%) образцов продукции животного происхождения, контаминированных бактериями рода *Salmonella*, получен 31 изолят сальмонелл.

При определении серогрупповой принадлежности изолятов сальмонелл установлено, что большинство из них относится к группе O₇, также в продукции животного происхождения выявлены сальмонеллы групп O₉, O₄ и O₅.

Установлено, что изоляты принадлежали к семи сероварам *S. enterica*: *Enteritidis*, *Infantis*, *Nigeria*, *Derby*, *Montevideo*, *Typhimurium*, *Meleagridis*. Превалирующими сероварами среди изолятов являлись *S. enterica* серовара *Infantis* (38,7%) и *S. enterica* серовара *Enteritidis* (16,1%).

Показано, что все изоляты были чувствительны к гентамицину, амикацину, азитромицину, амоксицилину/клавуланату, меропенему, имипенему.

Изоляты *S. enterica* серовара *Enteritidis* показали чувствительность почти ко всем антибиотикам, использованным в исследовании, кроме налидиксовой кислоты (80%).

Изоляты *S. enterica* серовара *Infantis* были чувствительны к антибиотикам из группы карбапенемов (меропенем, имипенем), β-лактамов (амоксициллин/клавуланат, цефотаксим, цефтриаксон), аминогликозидов (амикацин, гентамицин, канамицин), макролидов (азитромицин). Четыре изолята *S. enterica* серовара *Infantis* были резистентны к шести антибиотикам (12,9%) и один – к семи антибиотикам (3,2%), проявляя так называемую множественную резистентность.

Большая группа изолятов бактерии *Salmonella* других сероваров и нетипируемых сальмонелл была устойчива в отношении антибиотиков тетрациклинового ряда (доксикацилин и тетрациклин), а также к налидиксовой кислоте.

Необходимо отметить, что большинство исследованных изолятов (58,1%) обладали резистентностью к нескольким (более чем к четырем) антибиотикам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002). Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. – М.: Стандартинформ, 2014. – 19 с.
- МУК 4.2.1890-04. 4.3. Диффузионный метод (ДДМ). Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. – Роспотребнадзор, 2004. – С. 18–24.
- Antimicrobial resistance in developing countries. Part I: recent trends and current status / I. N. Okeke, R. Laxminarayan, Z. A. Bhutta [et al.] // *Lancet Infect. Dis.* – 2005. – Vol. 5, No. 8. – P. 481–493; DOI: 10.1016/s1473-3099(05)70189-4.
- Antimicrobial resistance in nontyphoid *Salmonella* serotypes: a global challenge / L.H. Su, Ch.-H. Chiu, Ch. Chu, J.T. Ou // *Clin. Infect. Dis.* – 2004. – Vol. 39 (4). – P. 546–551; DOI: 10.1086/422726.
- Ceftriaxone-resistant *Salmonella* infection acquired by a child from cattle / P. D. Fey, Th. J. Safranek, M. E. Rupp [et al.] // *N. Engl. J. Med.* – 2000. – Vol. 342 (17). – P. 1242–1249; DOI: 10.1056/NEJM200004273421703.
- Characterization of extended-spectrum β-lactamase (TEM-52)-producing strains of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* with diverse resistance phenotypes / H. Vahaboglu, M. Fuzi, S. Cetin [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2001. – Vol. 39 (2). – P. 791–793; DOI: 10.1128/JCM.39.2.791-793.2001.
- CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-fifth informational supplement. CLSI document

Таблица 3

Профили резистентности изолятов бактерий вида *Salmonella enterica*

Профиль резистентности	Серотипы	Количество изолятов
S	<i>Infantis, Nigeria, Derby</i>	13
Na	<i>Infantis, Enteritidis, Nigeria, Montevideo</i>	17
ST	<i>Infantis, Nigeria</i>	12
AT	<i>Infantis</i>	1
AS	<i>Infantis, Derby</i>	2
AST	<i>Infantis</i>	1
ACST	<i>Infantis</i>	1
NaST	<i>Infantis, Nigeria</i>	12
NaST Sxt	<i>Infantis</i>	4
NaST Dx	<i>Infantis, Nigeria</i>	12
NaST Dx Lvx	<i>Infantis, Nigeria</i>	7
NaST Dx Lvx Sxt	<i>Infantis</i>	4
ACNaST Dx Lvx	<i>Infantis</i>	1

A – ампициллин, C – хлорамфеникол, Dx – доксициклин, Lvx – левофлоксацин, Na – налидиксовая кислота, S – стрептомицин, Sxt – триметоприм/сульфаметоксазол, T – тетрациклин.

M100-S25. Vol. 35, No. 3 – Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015. – 236 p.

8. Emergence of domestically acquired ceftriaxone-resistant *Salmonella* infections associated with AmpC β-lactamase / E. F. Dunne, P. D. Fey, P. Kludt [et al.] // *JAMA*. – 2000. – Vol. 284, No. 24. – P. 3151–3156; DOI:10.1001/jama.284.24.3151.

9. Emerging quinolone-resistant *Salmonella* in the United States / H. Herikstad, P. Hayes, M. Mokhtar [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 1997. – Vol. 3, No. 3. – P. 371–372; DOI: 10.3201/eid0303.970316.

10. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 8.1, valid from 2018-05-15. – URL: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf.

11. Frost J. A., Kelleher A., Rowe B. Increasing ciprofloxacin resistance in *Salmonellas* in England and Wales 1991–1994 // *J. Antimicrob. Chemother.* – 1996. – Vol. 37 (1). – P. 85–91; DOI: 10.1093/jac/37.1.85.

12. Life-threatening infantile diarrhea from fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica* Typhimurium with Mutations in Both *gyrA* and *parC* / H. Nakaya, A. Yasuhara, K. Yoshimura [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2003. – Vol. 9, No. 2. – P. 255–257; DOI: 10.3201/eid0902.020185.

13. Maanasa B. M., Harish B. N. Drug resistance in nontyphoid *Salmonella* – challenges for the future / *J. Vet. Med. Res.* – Vol. 4 (1): 1069; URL: <https://jscimedcentral.com/VeterinaryMedicine/veterinary-medicine-4-1069.pdf>.

14. *Salmonella* nomenclature / F. W. Brenner, R. G. Villar, F. J. Angulo [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2000. – Vol. 38 (7). – P. 2465–2467.

15. Threlfall E. J. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2002. – Vol. 26 (2). – P. 141–148; DOI: 10.1111/j.1574-6976.2002.tb00606.x.

Поступила 05.06.18

Принята в печать 20.11.18

IDENTIFICATION AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *SALMONELLA* ISOLATES

G. S. Skitovich¹, N. B. Shadrova², O. V. Pruntova³, K. V. Serova⁴, S. Ye. Shmaihe⁵

¹Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: skitovich@arriah.ru

²Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shadrova@arriah.ru

³Chief Expert, Information and Analysis Centre, Doctor of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: pruntova@arriah.ru

⁴Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: serova@arriah.ru

⁵Veterinarian, FGBI "ARRIAH" Branch, Republic of Crimea, Russia, e-mail: shmaihe@arriah.ru

SUMMARY

The paper presents results of the *Salmonella* identification, testings of recovered isolates for their susceptibility to antibiotics and their serogroup and serovar distribution. In 2012–2017 13,774 tests of animal products were performed, 105 *Salmonella* contaminated samples were detected which is 0.76% of the total number of the tested samples. As a result, 31 isolates were recovered. It was established that 22 of them belonged to seven serovars: *S. enteritidis*, *S. infantis*, *S. nigeria*, *S. montevideo*, *S. typhimurium*, *S. derby*, *S. maelagris*. *S. infantis* (38.7%) and *S. enteritidis* (16.1%) were identified as the most spread serovars. There was observed a trend of increase in contaminated samples: 1.13% in 2012 upto 2.84% in 2017. The performed tests for antimicrobial resistance demonstrated that all isolates were susceptible to the following antibiotics: carbapenemes (meropenem, imipenem), β -lactams (amoxicillin /clavulanate), aminoglycoside (amikacin, gentamycin), macrolides (azithromycin). Most of the isolates demonstrated susceptibility to β -lactam antibiotics (ceftriaxone, cefotaxime), fluoroquinolones (ciprofloxacin) and aminoglycosides (kanamycin). Resistance at least to one antibiotic was detected in 12.9% (4/31) of isolates. Resistance to at least three antibiotics was detected in 6.5% (2/31) of isolates. 58.1% (18/31) of isolates demonstrated multiple resistance (to four or more antibiotics).

Key words: *Salmonella*, isolates, products of animal origin, serovar, antimicrobial resistance.

INTRODUCTION

Salmonella spp. are mobile gram-negative rod-shaped bacteria belonging to *Enterobacteriaceae* family. According to the current nomenclature approved by the World Health Organization and American Society for Microbiology and based on DNA-DNA hybridization only two species of *Salmonella* genus are identified: *S. enterica*, which comprises six subspecies I–IV (*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *S. enterica* subsp. *indica*), and *S. bongori*, containing one subspecies [13]. Most of the known serovars causing diseases in warm blooded animals and humans belong to *S. enterica* subsp. *enterica* [14]. They are zoonotic pathogens, and the range of animals carrying them is great. Nontyphoid *Salmonella* spp. *S. enterica*, such as *S. enterica* serovar *Typhimurium* and *S. enterica* serovar *Enteritidis*, are among the major agents of food-borne diseases in the world [12]. The cause of salmonellosis development in humans is consumption of contaminated water or food such as meat, meat products, and poultry products, especially eggs [15].

Despite considerable improvement of technologies and hygiene requirements during all stages of animal product manufacturing salmonellosis still presents a serious threat to human and animal health. Moreover, the number of *Salmonella* cases even in developed countries has lately increased. It is associated with emergence of *Salmonella* strains *S. typhimurium* and *S. enteritidis*, resistant to existing antibiotics and spread all over the world. Besides, such serovars as *S. panama*, *S. infantis*, *S. newport*, *S. agona*, *S. derby* and *S. london* also cause salmonellosis. Lately the European Legislation has required to control the usage of antimicrobials for productive animals. However, there have been observed greater resistance in salmonellas transmitted through the alimentary route [3, 4]. In veterinary practice antibiotics are used for therapeutic purposes, prevention as well as growth promotion (feed additives). Of particular concern is development of resistance to effectual drugs with broad spectrum of activity such as fluoroquinolones; more isolates demonstrate decrease in susceptibility to ciprofloxacin [9, 11] and β -lactams [5, 6, 8]. The number of isolates characterized by multiple drug resistance to seven or more antibiotics is also growing. Today more cases of nontyphoid salmonellosis characterized by multiple drug resistance are observed.

Our investigation was aimed at recovery of *Salmonella* spp. from animal product samples, determination of their serogroup and serovar distribution as well as studying antimicrobial resistance of the recovered isolates.

MATERIALS AND METHODS

Bacteria cultures: 31 *Salmonella* isolates recovered from raw material of animal origin were used for microbiological testing in 2017.

Escherichia coli No. 25922 (ATCC, USA) was used to control the quality of paper discs soaked with different antibiotics.

Microbiological tests of samples. The tests were performed according to GOST 31659-2012 [1]. The prepared product sample weighing ($25 \pm 0,1$) g was added into a sterile bag containing 225 cm³ of buffered peptone water. Then it was homogenized for 1 min and incubated at (37 ± 1) °C for (18 ± 1) h.

Reagents and nutrient media. The following reagents were used: BPW (HiMedia, India), Rappaport-Vassiliadis (RV) broth, RVS (Merck, Germany), Selenite enrichment broth (Merck, Germany), tryptic soya agar – TSA (Scharlau,

Spain), XLD agar (Obolensk, RF), bismuth-sulfite agar – VSA (Merck, Germany). All the nutrient media were prepared according to the manufacturer's instruction.

Salmonella serovars were determined using poly- and monovalent "Petsal" sera (RF).

After the first enrichment stage 1 cm³ of the sample was inoculated into 10 cm³ RVS and 10 cm³ of selenite medium. Inoculated RVS was incubated at (41,5 ± 1) °C for (24 ± 1) h. Inoculated selenite medium was incubated at (37 ± 1) °C for (24 ± 1) h.

After incubation VSA and XLD were streak-inoculated from each tube using an inoculating loop. Incubation was performed at (37 ± 1) °C for (24 ± 1) h.

Biochemical tests API 20E (BioMerieux, France) and ELISA with mini VIDAS analyzer were used to confirm that the grown colony belonged to *Salmonella* spp. After identification the isolates were stored at –20 °C in casein soy-bean digest broth containing 15% glycerine.

Preparation of suspension of the tested microorganisms for antimicrobial resistance determination. One-day culture of microorganisms, grown on dense MPA (meat peptone agar) medium was used to prepare the suspension. Several colonies were transferred to the saline solution using a loop adjusting the optical density of the suspension up to 0.5 MacFarland standard. The suspension was used within 15 minutes after preparation.

Antibiotics. Standard paper discs with the following antibiotics were used: azithromycin (15 µg/disk), kanamycin (30 µg/disk), nalidixic acid (30 µg/disk), streptomycin (10 µg/disk), tetracycline (30 µg/disk), levofloxacin (5 µg/disk), amikacin (30 µg/disk), amoxicillin (25 µg/disk), sulfamethoxazole/trimethoprim (23,75/1,25 µg/disk), ampicillin (10 µg/disk), amoxicillin/clavulanate (20/10 µg/disk), gentamycin (10 µg/disk), doxycycline (30 µg/disk), ceftriaxone (30 µg/disk), cefotaxime (30 µg/disk), chloramphenicol (30 µg/disk), imipenem (10 µg/disk), meropenem (10 µg/disk), ciprofloxacin (5 µg/disk) – made by Pasteur Institute of Epidemiology and Microbiology, RF.

Determination of antimicrobial resistance. Susceptibility of *Salmonella* spp. isolates to antibiotics was studied according to generally accepted and approved methodical recommendations [2, 7, 10]. 20 ml of the melted TSA were added to 100 mm Petri dishes. Prior to inoculation the medium surface was dried. 0.1 ml of the bacterial suspension was added to the agar surface and evenly spread using a pallette. Then disks with antibiotics were placed using sterile forceps. The effect of four antibiotics was tested in each dish. After disk application Petri dishes were incubated bottom up for 18–24 h at 37 °C. The results were assessed by the presence of inhibition zones around the disks. Test organism growth inhibition at 10 mm distance from the disk with the antibiotic was indicative of the strain's susceptibility. If the test organism developed close to the disk with antibiotics, this organism was determined as resistant to the antibiotic. The inhibition zone diameter including the disk diameter was measured to a precision of 1 mm [3].

RESULTS AND DISCUSSION

In 2012–2017 the FGBI "ARRIAH" laboratory for microbiological tests performed tests of animal products for safety criteria in the framework of the Residue Monitoring Plan, government orders and requests of raw material and food product manufacturers.

Detection of *Salmonella* spp. in such types of products as meat, meat products, poultry meat is regulated by the

Table 1
Detection of *Salmonella* bacteria in samples of food products of animal origin in 2012–2017

Year	Number of tests	Number of positives	Percent (%) of positives
2012	2040	23	1.13
2013	3686	10	0.27
2014	2405	7	0.29
2015	2545	4	0.15
2016	2009	30	1.5
2017	1089	31	2.8
Bcero	13 774	105	0.76

requirements of the Technical Regulations (TR) of the Customs Union (CU) – TR CU 034/2013, TR CU 021/2011. During the specified period 13,774 test for *Salmonella* spp. were performed and 105 positive samples were detected which is 0.76% of the total number of tests.

Analysis of data on *Salmonella* detection is shown in Table 1 which demonstrates the trend of increase in *Salmonella* spp. isolates obtained within the last three years. In 2017 *Salmonella* bacteria were detected in animal products 11 times more than in 2013–2015 and two times more than in 2016.

The majority of *Salmonella* isolates were detected in such products as poultry meat, pork, beef, poultry, and poultry offal. Most isolates (48.3%) were recovered when testing poultry meat preparations (Figure 1).

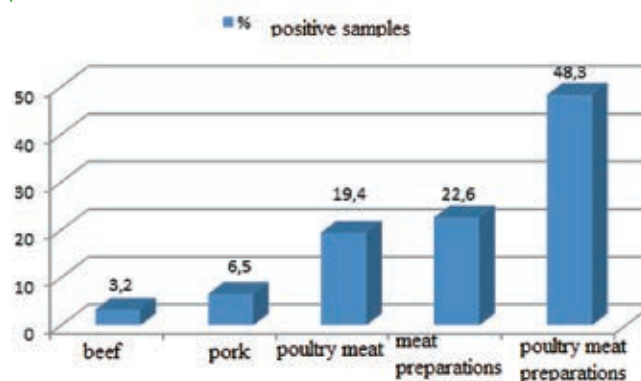
When determining the serogroup distribution of *Salmonella* isolates recovered in 2017 (Figure 2) it was observed that the majority of isolates belonged to group O₇, *Salmonella* spp. O₉ и O₄, O₅, were also detected in products of animal origin.

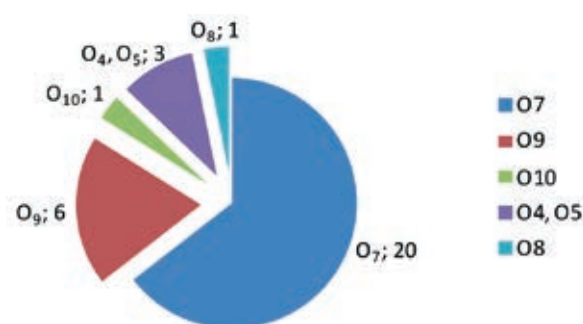
The most frequently detected serovars are *S. enterica* serovar *Infantis* – 12 (38.7%) and *S. enterica* serovar *Enteritidis* – 5 (16.1%). *S. typhimurium*, *S. nigeria*, *S. montevideo*, *S. derby*, *S. meleagridis* serovars were also detected. It was found out that 9 serovars (29%) were nontypeable.

Nowadays the major problem in veterinary science is wide spread of resistant forms of microorganisms and, consequently, less effective antibiotics.

The next stage of our research was determination of antimicrobial resistance of 31 *Salmonella* spp. isolates. According to the "Methodical instructions for determina-

Fig. 1. Frequency of *Salmonella* spp. detection in different animal products in 2017



Fig. 2. *Salmonella* spp. serogroups

tion of microbial susceptibility to antimicrobials" the microorganisms were assessed as susceptible, resistant and intermediate by the presence of inhibition zones around discs [2]. The obtained results are demonstrated in Table 2.

Quinolones and their derivatives are synthetic antibiotics preventing bacterial DNA untwisting and replication. These preparations are often used for treatment of serious animal infections because of their low toxicity. Precisely because of that the development of resistance to new antibiotics is a real danger [13]. In our research we determined the susceptibility to three quinolones and it was demonstrated that a large group of isolates is resistant to nalidixic acid (70.9%). Several *S. infantis* isolates (58.3%),

Salmonella isolates of other serovars and non-typeable *Salmonella* spp. (42.9%) were resistant to levofloxacin. Herewith, all the isolates were susceptible to ciprofloxacin.

Chloramphenicol is a broad spectrum antibiotic active against gram-positive and gram-negative bacteria. For a long time it has been used for treating salmonellosis in humans and in animals. In the present time the use of this antibiotic is restricted because of *Salmonella* spp. resistance [13]. In our research all isolates demonstrated resistance to chloramphenicol except for *S. infantis*.

All isolates of *S. enterica* serovar *Enteritidis* were susceptible to all antibiotics used in the research except for nalidixic acid. Four isolates demonstrated resistance to this antibiotic (80%).

Isolates of *S. enterica* serovar *Infantis* demonstrated resistance to streptomycin (Aminoglycosides) – 91.7%; doxycycline and tetracycline (tetracyclines) – 91.7%. Besides, there were demonstrated different levels of resistance to levofloxacin – 58.3% and nalidixic acid – 83.3% (quinolones); trimethoprim/sulfamethoxazole – 33.3% (polymyxin). Single *Infantis* isolates demonstrated resistance to amoxicillin and ampicillin (β -lactam group) and chloramphenicol. At the same time isolates of this serovar were susceptible to carbapenems (meropenem, imipenem), β -lactams (amoxicillin/clavulanate, cefotaxime, ceftriaxone), aminoglycosides (amikacin, gentamycin, kanamycin), macrolides (azithromycin) and quinolones (ciprofloxacin) (Table 2).

Table 2
Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolates

Antibiotics	Inhibition zone diameter, mm			Number of isolates (%)								
				<i>S. enteritidis</i> (n = 5)			<i>S. infantis</i> (n = 12)			Other and nontypeable serotypes (n = 14)		
	R ≤	I	S ≥	R ≤	I	S ≥	R ≤	I	S ≥	R ≤	I	S ≥
Amikacin	14	14–16	17	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Azithromycin	12	–	13	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Amoxicillin	13	14–16	17	–	–	5 (100)	1 (8.3)	–	11 (91.7)	1 (7.1)	–	13 (92.9)
Ampicillin	13	14–16	17	–	–	5 (100)	1 (8.3)	–	11 (91.7)	1 (7.1)	–	13 (92.9)
Amoxycillin/clavulanate	13	14–17	18	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Meropenem	13	14–15	16	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Imipenem	13	14–15	16	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Cefotaxime	14	15–22	23	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	1 (7.1)	13 (92.9)
Ceftriaxon	13	14–20	21	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	1 (7.1)	13 (92.9)
Gentamycin	12	13–14	15	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	–	14 (100)
Kanamycin	13	14–17	18	–	–	5 (100)	–	–	12 (100)	–	1 (7.1)	13 (92.9)
Chloramphenicol	12	13–17	18	–	–	5 (100)	1 (8.3)	–	11 (91.7)	–	–	14 (100)
Streptomycin	11	12–14	15	–	–	5 (100)	11 (91.7)	–	1 (9.1)	7 (50)	3 (20)	4 (30)
Ciprofloxacin	15	16–20	21	–	–	5 (100)	–	1 (8.3)	11 (91.7)	–	–	14 (100)
Tetracycline	11	12–14	15	–	–	5 (100)	11 (91.7)	–	1 (8.3)	8 (57.1)	–	6 (42.9)
Doxycycline	10	11–16	14	–	–	5 (100)	11 (91.7)	–	1 (8.3)	8 (57.1)	–	6 (42.9)
Nalidixic acid	13	14–18	19	4 (80)	–	1 (20)	10 (83.3)	1 (8.3)	1 (8.3)	8 (57.1)	2 (14.2)	4 (26.7)
Levofloxacin	23	–	24	–	–	5 (100)	7 (58.3)	–	5 (41.7)	6 (42.9)	–	8 (57.1)
Trimethoprim/sulfamethoxazole	10	11–15	16	–	–	5 (100)	4 (33.3)	–	8 (66.7)	1 (7.1)	–	13 (92.9)
Resistant to one antibiotic				4 (80)			–			–		
Resistant to four and more antibiotics				–			11 (91.7)			7 (50)		

R ≤ – resistant; I – intermediate; S ≥ – susceptible.

Salmonella isolates of other serovars and nontypeable *Salmonella* spp. demonstrated partial resistance to streptomycin (50%) and levofloxacin (42.9%). More than a half of isolates (57.1%) were resistant to tetracyclines: doxycycline and tetracycline, as well as to nalidixic acid, as it has been mentioned before.

It should be noted that most of the tested isolates (58.1%) are resistant to several (four or more) antibiotics demonstrating so called multiple resistance. Table 3 demonstrates different profiles of antimicrobial resistance of the recovered isolates.

Table 3 shows that 4 isolates of *S. enterica* serovar *Infantis* were resistant to six antibiotics (12.9%) and one isolate – to seven antibiotics (3.2%).

CONCLUSION

During the research 13,774 tests were performed and 105 (0.76%) samples of animal products contaminated with *Salmonella* spp. were detected. 31 *Salmonella* isolates were recovered.

When determining serogroups of *Salmonella* isolates it was found out that the majority of them belong to group O₇. It was also revealed that *Salmonella* spp. detected in products of animal origin belonged to groups O₉, O₄ and O₅.

The recovered isolates belonged to seven serovars *S. enterica*: *Enteritidis*, *Infantis*, *Nigeria*, *Derby*, *Montevideo*, *Typhimurium*, and *Meleagridis*. Serovars *S. enterica* *Infantis* (38.7%) and *S. enterica* *Enteritidis* (16.1%) prevailed among others.

It was demonstrated that all the isolates were susceptible to gentamycin, amikacin, azithromycin, amoxicillin clavulanate, meropenem, and imipenem.

S. enterica serovar *Enteritidis* isolates demonstrated susceptibility almost to all antibiotics used in the research, except for nalidixic acid (80%).

S. enterica serovar *Infantis* isolates were susceptible to carbapenems (meropenem, imipenem), β-lactams (amoxicillin/clavulanate, cefotaxime, ceftriaxone), aminoglycosides, (amikacin, gentamicin, kanamycin), macrolides (azithromycin). Four *S. enterica* serovar *Infantis* isolates were resistant to six antibiotics (12.9%) and one – to seven antibiotics (3.2%), thus demonstrating multiple resistance.

A large group of *Salmonella* isolates belonging to other serovars and nontypeable *Salmonella* spp. was resistant to tetracyclines (doxycycline and tetracycline), as well as to nalidixic acid.

It is worth noting that most of the tested isolates (58.1%) demonstrated resistance to several (more than four) antibiotics.

REFERENCES

1. GOST 31659-2012 (ISO 6579:2002). Food products *Salmonella* spp. detection method [Продукты пishchevye. Metod vyyavleniya bakterij roda *Salmonella*]. M.: Standardinform, 2014 (in Russian).
2. Methodical Instruction (MUK) 4.2.1890-04. 4.3. Disc diffusion method. Detection of microorganism resistance to antimicrobials [Диско-диффузионный метод (DDM). Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam]. Rospotrebnadzor. 2004; 18–21 (in Russian).
3. Antimicrobial resistance in developing countries. Part I: recent trends and current status. I. N. Okeke, R. Laxminarayan, Z. A. Bhutta [et al.]. *Lancet Infect. Dis.* 2005; 5 (8): 481–493; DOI: 10.1016/s1473-3099(05)70189-4.
4. Antimicrobial resistance in nontyphoid *Salmonella* serotypes: a global challenge. L.-H. Su, Ch.-H. Chiu, Ch. Chu, J. T. Ou. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39 (4): 546–551; DOI: 10.1086/422726.

Table 3
Resistance profiles of *Salmonella enterica* isolates

Resistance profile	Serotypes	Number of isolates
S	<i>Infantis</i> , <i>Nigeria</i> , <i>Derby</i>	13
Na	<i>Infantis</i> , <i>Enteritidis</i> , <i>Nigeri</i> , <i>Montevideo</i>	17
ST	<i>Infantis</i> , <i>Nigeria</i>	12
A T	<i>Infantis</i>	1
A S	<i>Infantis</i> , <i>Derby</i>	2
A S T	<i>Infantis</i>	1
A C S T	<i>Infantis</i>	1
Na S T	<i>Infantis</i> , <i>Nigeria</i>	12
Na S T Sxt	<i>Infantis</i>	4
Na S T Dx	<i>Infantis</i> , <i>Nigeria</i>	12
Na S T Dx Lvx	<i>Infantis</i> , <i>Nigeria</i>	7
Na S T Dx Lvx Sxt	<i>Infantis</i>	4
A C Na S T Dx Lvx	<i>Infantis</i>	1

A – ampicillin, C – chloramphenicol, Dx – doxycycline, Lvx – levofloxacin, Na – nalidixic acid, S – streptomycin, Sxt – trimethoprim / sulfamethoxazole, T – tetracycline.

5. Ceftriaxone-resistant *Salmonella* infection acquired by a child from cattle. P. D. Fey, Th. J. Safraneck, M. E. Rupp [et al.]. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342 (17): 1242–1249; DOI: 10.1056/NEJM200004273421703.

6. Characterization of extended-spectrum β-lactamase (TEM-52)-producing strains of *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* with diverse resistance phenotypes. H. Vahaboglu, M. Fuzi, S. Cetin [et al.]. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39 (2): 791–793; DOI: 10.1128/JCM.39.2.791-793.2001.

7. CLSI. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-fifth informational supplement. CLSI document M100-S25. Vol. 35. No. 3. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2015.

8. Emergence of domestically acquired ceftriaxone-resistant *Salmonella* infections associated with AmpC β-lactamase. E. F. Dunne, P. D. Fey, P. Kludt [et al.]. *JAMA.* 2000; 284 (24): 3151–3156; DOI: 10.1001/jama.284.24.3151.

9. Emerging quinolone-resistant *Salmonella* in the United States. H. Herikstad, P. Hayes, M. Mokhtar [et al.]. *Emerg. Infect. Dis.* 1997; 3 (3): 371–372; DOI: 10.3201/eid0303.970316.

10. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 8.1, valid from 2018-05-15. URL: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_8.1_Breakpoint_Tables.pdf.

11. Frost J. A., Kelleher A., Rowe B. Increasing ciprofloxacin resistance in salmonellas in England and Wales 1991–1994. *J. Antimicrob. Chemother.* 1996; 37 (1): 85–91; DOI: 10.1093/jac/37.1.85.

12. Life-threatening infantile diarrhea from fluoroquinolone-resistant *Salmonella enteric* Typhimurium with Mutations in Both *gyrA* and *parC*. H. Nakaya, A. Yasuhara, K. Yoshimura [et al.]. *Emerg. Infect. Dis.* 2003; 9 (2): 255–257; DOI: 10.3201/eid0902.020185.

13. Maanasa B. M., Harish B. N. Drug resistance in nontyphoidal *Salmonella* – challenges for the future. *J. Vet. Med. Res.* 2017; 4 (1): 1069; URL: <https://jvscimedcentral.com/VeterinaryMedicine/veterinarymedicine-4-1069.pdf>.

14. *Salmonella* nomenclature. F. W. Brenner, R. G. Villar, F. J. Angulo [et al.]. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38 (7): 2465–2467; PMID: PMC86943.

15. Threlfall E. J. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: problems and perspectives in food- and water-borne infections. *FEMS Microbiology Reviews.* 2002; 26 (2): 141–148; DOI: 10.1111/j.1574-6976.2002.tb00606.x.

Submitted on 05.06.18

Approved for publication on 20.11.18

АНАЛИЗ ВЫЯВЛЕНИЙ БАКТЕРИЙ РОДА *SALMONELLA* В СТРАНАХ ЕВРОПЕЙСКОГО СОЮЗА ПО ДАННЫМ ИНФОРМАЦИОННОЙ СИСТЕМЫ RASFF

С. Е. Шмайхель¹, Н. Б. Шадрова²

¹ Ведущий ветеринарный врач, филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия, e-mail: shmaiheh@arriah.ru

² Заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shadrova@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Представлены официальные данные системы RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) о выявлении бактерий рода *Salmonella* в сырье животного и растительного происхождения в период с 2010 по 2015 г. От стран – членов RASFF поступило 2651 уведомление о выявлении бактерий рода *Salmonella*, большинство из которых связано с контаминированием мяса птицы и изделий из мяса птицы, кормов, фруктов и овощей. В пищевой продукции сальмонеллы могут выживать длительное время (до 6 мес). Чаще всего причиной сальмонеллеза у людей является употребление сырых или недостаточно обработанных термически яиц, мясных и молочных продуктов. Регламент (ЕС) № 142/2011 устанавливает требование, которому должны соответствовать обработанные и готовые к употреблению продукты, – отсутствие сальмонеллы в 25 г продукта. При анализе данных информационной системы RASFF за 2010–2015 гг. отмечен ежегодный рост случаев обнаружения бактерий рода *Salmonella*. Наиболее часто встречающийся вид – *Salmonella enterica*. За указанный период поступили уведомления об обнаружении сальмонелл, принадлежащих к 154 серовариантам, из которых преобладающими являются: *S. enterica* – 32,4%; *Salmonella* spp. – 18,8%; *S. enteritidis* – 6,3%; *S. typhimurium* – 4,6%; *S. Agona* – 2,6%; *S. Lexington* – 1,4%. Бактерии рода *Salmonella* обнаружены в мясе кур (19,5%), в кормах для собак и кошек (5,6%), в свинине (3,7%), в рыбной муке (5,1%). В период с 2010 по 2014 г. отмечен рост уведомлений о выявлении сальмонелл в кормах растительного происхождения. Всего с 2010 по 2015 г. в информационной системе RASFF зарегистрировано 42 вспышки сальмонеллезов, в результате которых заболело 1586 человек.

Ключевые слова: сальмонелла, сырье животного и растительного происхождения, система RASFF, Европейский союз, вспышки сальмонеллеза.

UDC 619:579.842.14:637

ANALYSIS OF *SALMONELLA* SPP. DETECTIONS IN EUROPEAN UNION COUNTRIES ACCORDING TO RASFF DATABASE

S. Ye. Smajhel¹, N. B. Shadrova²

¹ Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol, Russia, e-mail: shmaiheh@arriah.ru

² Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shadrova@arriah.ru

SUMMARY

Official data of RASFF (Rapid Alert System for Food and Feed) database on detection of *Salmonella* spp. in animal and plant raw materials in 2010–2015 are demonstrated. Total of 2,651 notifications of *Salmonella* spp. detection were reported by RASFF member countries. The majority of such notifications are associated with contamination of poultry meat and poultry products, feed, fruits and vegetables. *Salmonella* can survive in food for a long time (up to 6 months). The cause of salmonellosis in humans mostly involves consumption of raw or insufficiently heat-treated eggs, meat and milk products. Regulation (EU) No. 142/2011 prescribes a requirement, which the heat-treated and processed food products shall comply with, i.e. absence of *Salmonella* in 25 g of the product. Analysis of RASFF data for 2010–2015 demonstrated annual increase of *Salmonella* spp. detections. The most frequently occurring is *Salmonella enterica*. Over the above mentioned period there were notifications of 154 *Salmonella* serovars, the overwhelming serovars include *S. enterica* – 32.4%; *Salmonella* spp. – 18.8%; *S. enteritidis* – 6.3%; *S. typhimurium* – 4.6%; *S. Agona* – 2.6%; *S. Lexington* – 1.4%. *Salmonella* spp. were detected in poultry meat (19.5%), in feed for dogs and cats (5.6%), in pork (3.7%), in fishmeal (5.1%). During the period from 2010 to 2014, the increase of *Salmonella* notifications in plant feed was reported. Over 2010–2015, RASFF reported of 42 salmonellosis outbreaks that resulted in 1,586 diseased humans.

Key words: *Salmonella*, animal and plant raw materials, RASFF, European Union, salmonellosis outbreaks.

ВВЕДЕНИЕ

Salmonella – род палочковидных грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, не образующих спор и капсул. Сальмонеллы обладают сравнительно высокой степенью устойчивости к воздействию различных факторов окружающей среды. Кипячение убивает сальмонелл мгновенно, а при низких температурах (–20 °C) они способны длительное время оставаться жизнеспособными. Сальмонеллы сохраняют жизнеспособность в объектах внешней среды: в воде открытых водоемов и питьевой воде – 11–120 сут, в морской воде – 15–27 сут, в почве – 1–9 мес, в комнатной пыли – 80–547 сут, в колбасных изделиях – 60–130 сут, в замороженном мясе – 6–13 мес, в яйцах – до 13 мес, в яичном порошке – до 9 мес, на замороженных овощах и фруктах – 0,5–2,5 мес. Наиболее устойчива *Salmonella typhimurium*, остающаяся жизнеспособной на тканях и на бумаге до года [4].

Большинство штаммов сальмонелл не только выживают в пищевых продуктах (в молоке – 2–40 сут, кефире – около 30 сут, в копченостях – от 4 до 6 мес), но и размножаются с накоплением в них эндотоксинов. По структуре

О-антигена сальмонеллы подразделяются на группы А, В, С, D, Е и т. д.; а по жгутиковому Н-антигену – на серовары. От человека выделено более 700 сероваров [13].

Согласно современной классификации род *Salmonella* представлен двумя видами – *S. enterica* и *S. bongori*. Сальмонеллы вида *S. enterica* делятся на несколько подвидов.

Деление на подвиды имеет определенное эпидемиологическое значение, так как основным естественным резервуаром сальмонелл подвидов I и II служат теплокровные животные, а представителей остальных подвидов (IIIa, IIIb, IV, VI и вида *S. bongori* (V)) – хладнокровные животные и окружающая среда. Современная схема Кауфмана – Уайта насчитывает 2579 серологических вариантов сальмонелл [5].

Многие серотипы *Salmonella enterica* являются возбудителями заболеваний человека, в том числе брюшного тифа, паратифа, сальмонеллеза. Сальмонеллы вида *Salmonella bongori* не патогенны для человека [14].

Причиной сальмонеллеза чаще всего являются содержащие сальмонеллы яйца (до 90% случаев сальмонеллезов связано с употреблением сырых или недостаточно термически обработанных яиц), мясные и молочные продукты, в меньшей степени рыба и рыбные продукты, а также продукты растительного происхождения. Природный резервуар сальмонелл – домашние животные: утки, куры, крупный рогатый скот, свиньи, овцы. Попадание сальмонелл в пищу часто происходит при ее неправильной кулинарной обработке, при несоблюдении санитарных норм при ее приготовлении [14].

Мясо птицы обсеменяется микроорганизмами при жизни, после уоя и обработки при ошпаривании, удалении оперения, потрошении и охлаждении [3].

По данным Всемирной организации здравоохранения, серотипы *Enteritidis* и *Typhimurium* *Salmonella enterica* – два самых важных серотипа *Salmonella*, передаваемые от животных человеку в большинстве регионов мира [12].

Целью данной работы является анализ выявлений бактерий рода *Salmonella* в странах Европейского союза (ЕС) по данным информационной системы RASFF в период с 2010 по 2015 г.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА И БЕЗОПАСНОСТИ СЫРЬЯ ЖИВОТНОГО И РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В СТРАНАХ ЕВРОПЕЙСКОГО СОЮЗА

1. Система быстрого оповещения о качестве пищевых продуктов и кормов в Европейском союзе (RASFF, Rapid Alert System for Food and Feed) создана в 1979 г. с целью предоставления органам, осуществляющим надзор за безопасностью и качеством пищевых продуктов, эффективного средства для оперативного обмена информацией о случаях выявления пищевой продукции, представляющей опасность для здоровья человека и животных.

Членами системы являются все государства ЕС, Норвегия, Лихтенштейн, Исландия, Швейцария и Европейское агентство по безопасности продуктов питания (EFSA). Страна – член RASFF, на территории которой произошло выявление микроорганизмов или аналитов, содержание которых регламентируется законодательством ЕС, вносит данные в информационную систему RASFF о несоответствующем продукте и о принятых

мерах для устранения риска его использования. Подобный быстрый обмен информацией позволяет всем членам RASFF оценивать в реальном времени необходимость срочных действий, таких как возврат, изъятие или уничтожение продукта. Уполномоченные структуры стран – членов RASFF несут ответственность за принятие необходимых экстренных мер, включая предоставление прямой информации общественности, вывод продуктов с рынка и контроль на местах [17].

Около половины уведомлений в системе RASFF связано с контролем продукции на внешних границах ЕС, в пунктах въезда или на пограничных инспекционных постах. Кроме того, оповещения о несоответствующей продукции могут появляться в результате проведенных проверок со стороны контролирующих органов или в результате инцидентов с пищевыми отравлениями.

Законодательство в отношении качества и безопасности пищевых продуктов в ЕС базируется на регламентах (ЕС) № 178/2002 и № 882/2004.

Регламент (ЕС) № 178/2002 устанавливает общие принципы и требования пищевого законодательства в ЕС, охватывая все этапы производства и переработки пищевых продуктов в рамках пищевой цепочки «от фермы до тарелки». Кроме того, Регламент устанавливает и определяет полномочия Европейского агентства по безопасности продуктов питания (EFSA) и внедряет систему быстрого оповещения стран ЕС о качестве продуктов питания и кормов (RASFF).

В Регламенте (ЕС) № 882/2004 установлены общие принципы официального контроля, осуществляемого с целью обеспечения соблюдения законодательства в отношении пищевых продуктов и кормов. Кроме того, странам ЕС наряду с ведением соответствующей отчетности предписывается создание многолетнего национального плана контроля за безопасностью пищевых продуктов (Multi Annual National Control Plan) [1].

В связи с тем, что законодательством ЕС не установлены микробиологические критерии по содержанию бактерий рода *Salmonella* в сырье, уведомления в системе RASFF основываются на национальных критериях по данному показателю или в каждом конкретном случае на основе оценки риска.

Для обработанных продуктов животного происхождения в Регламенте (ЕС) № 142/2011 установлено требование отсутствия сальмонеллы в 25 г продукта, а Директивой Совета 94/65/ЕС в перечень продуктов, в которых регламентирован контроль сальмонелл, включен мясной фарш.

Отбор образцов для микробиологического исследования на наличие сальмонелл должен проводиться в соответствии с требованиями стандарта EN/ISO 6579.

В случае возникновения между государствами споров по поводу результатов микробиологического тестирования в качестве эталонного метода следует рассматривать ISO 6579:2002 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Этот международный стандарт распространяется на пищевые продукты и устанавливает метод выявления в определенной массе или объеме продукта бактерий рода *Salmonella*, включая *S. Typhi* и *S. Paratyphi* [2, 11].

Согласно Регламенту (ЕС) № 2160/2003, при обнаружении и подтверждении серологических типов *S. enteritidis* или *S. typhimurium* во взятых пробах предусмотрены конкретные меры контроля инфекции [10].

Таблица
Распределение выявлений бактерий рода *Salmonella* по видам продукции

Наименование продукта	2010	2011	2012	2013	2014	2015	Итого
Мясо птицы	53	42	54	171	152	149	621
Кормовые материалы	83	102	106	112	115	88	606
Фрукты и овощи	5	100	70	58	37	95	365
Мясо и мясные продукты (кроме мяса птицы)	66	37	61	53	37	44	298
Травы и специи	33	55	32	24	29	25	198
Орехи, продукты из орехов и семена	22	13	21	12	30	73	171
Корм для домашних животных	36	24	19	17	29	19	144
Двустворчатые моллюски	3	6	4	17	9	4	43
Молоко и молочные продукты	4	4	4	3	8	8	31
Яйцо и яичные продукты	6	6	6	2	5	3	28
Рыба и рыбная продукция	11	2	1	3	1	1	19
Ракообразные и продукты из них	5	3	2	1	3	5	19
Головоногие и продукты из них	–	1	14	–	–	–	15
Диетические продукты, пищевые добавки, обогащенные продукты	3	–	–	1	4	5	13
Побочные продукты животного происхождения	2	–	7	–	4	–	13
Зерновые и хлебобулочные изделия	1	1	3	1	2	2	10
Приготовленные блюда и закуски	–	–	2	2	5	–	9
Какао и какао-продукты, кофе и чай	3	1	2	–	1	1	8
Другие пищевые продукты	–	–	6	2	–	–	8
Комбикорма	1	3	–	2	1	–	7
Кондитерские изделия	5	–	–	1	2	–	8
Пищевые добавки и ароматизаторы	1	–	1	2	–	–	4
Жиры и масла	2	–	–	–	1	–	3
Гастроподы	1	–	1	–	1	–	3
Кормовые добавки	–	–	1	–	1	–	2
Премиксы	–	1	1	–	–	–	2
Супы, бульоны, соусы и приправы	–	1	1	–	–	–	2
Мороженое и десерты	–	–	–	1	–	–	1
Всего	346	402	419	485	477	522	2651

2. Выявление бактерий рода *Salmonella* в странах Европейского союза за период с 2010 по 2015 г.

Согласно данным системы RASFF, за указанный период из стран Евросоюза поступило 2651 уведомление о выявлении бактерий рода *Salmonella* в следующих видах продукции: мясо птицы и продукты из мяса птицы – 23,4%, кормовые материалы – 22,9%, фрукты и овощи – 13,8%, мясо и мясные продукты (кроме мяса птицы) – 11,2%, травы и специи – 7,5%, орехи, продукты и орехов и семена – 6,5%, корм для домашних животных – 5,4%, двустворчатые моллюски – 1,6%, молоко и молочные продукты – 1,2%, яйца и продукты из яиц – 1,0%, рыба и рыбная продукция – 0,7%, ракообразные – 0,7%, головоногие моллюски – 0,6%, диетические продукты, пищевые добавки, обогащенные продукты – 0,5%, субпродукты – 0,5%, зерновые и хлебобулочные изделия – 0,4%, какао и какао-продукты, кофе и чай – 0,3%, ком-

бикорм – 0,3%, кондитерские изделия – 0,3%, другие пищевые продукты/смеси – 0,3%, пищевые добавки и ароматизаторы – 0,2%, жиры и масла – 0,1%, кормовые добавки – 0,1%, премиксы – 0,1%, гастроподы (брюхоногие моллюски) – 0,1%, мороженое и десерты – 0,1%, приготовленные блюда и закуски – 0,1%, супы, бульоны, соусы, приправы – 0,1% (табл.).

В 2010 г. 27 стран ЕС разместили в системе RASFF 346 уведомлений о выявлении бактерий рода *Salmonella*, из них 108 случаев инициированы пограничным контролем, 238 – выявлены в ходе официального контроля на рынке. Кроме того, 81 уведомление (34%) было связано с проведением внутренних проверок.

В 2011 г. количество уведомлений о выявлении сальмонелл увеличилось до 402. Стоит отметить, что 26 из 55 уведомлений касались трав и специй, происходя-

щих из Вьетнама, при этом в 2010 г. было только одно подобное сообщение.

В 2013 г. количество уведомлений увеличилось до 485, в 2014 г. – до 477. Нидерланды 49 раз сообщали о продуктах из мяса птицы производства Бразилии, не прошедших пограничный контроль.

В 2015 г. в системе RASFF размещено 522 уведомления о выявлении бактерий рода *Salmonella* (рис. 1).

Выявление бактерий рода *Salmonella* в продукции животного происхождения. В 2010–2015 гг. от стран – членов RASFF поступило 1486 уведомлений о выявлении бактерий рода *Salmonella* в сырье и кормах животного происхождения.

По данным RASFF, в 2010 г. сальмонеллы чаще всего выявляли в мясе, в том числе мясе птицы, и в кормах. Страна происхождения некачественных продуктов являлись Германия, Турция, Индия. В 70 случаях обнаружены сальмонеллы серотипа *S. enterica* subsp. *enterica*.

В кормах обнаружили 32 сероварианта сальмонелл; мясе и продуктах из мяса, в том числе мясе птицы, – 32; двустворчатых моллюсках – 1; яйцах – 5; рыбе и рыбной продукции – 5; молоке и молочной продукции – 4; гастроподах – 1; жирах – 2; диетических продуктах, пищевых добавках, обогащенных продуктах – 3; ракообразных и продуктах из них – 4; побочных продуктах животного происхождения (субпродуктах) – 1 (рис. 2).

В 2011 г. в большинстве категорий продуктов и кормов выявляли *S. enterica*. По сравнению с 2010 г. возросло видовое разнообразие сальмонелл, так же как и количество уведомлений об их обнаружении. Так, в двустворчатых моллюсках выявили 4 сероварианта сальмонелл; кормах – 24; мясе – 12; мясе птицы – 17; яйце и яичных продуктах – 3; рыбе и рыбной продукции – 2; молоке и молочной продукции – 3; ракообразных и продуктах из них – 2; замороженных кальмарах – 1.

В 2012 г. во всех партиях головоногих моллюсков, поступавших из Индонезии, выявлена *S. enterica*. Наибольшее разнообразие по серовариантному составу наблюдалось в кормах (18 серовариантов), в мясе, кроме мяса птицы (11), в мясе птицы (12).

В 2013 г. по сравнению с 2010–2012 гг. наблюдалось заметное увеличение числа выявлений *S. enterica* (с 13 до 17 уведомлений) и видового разнообразия сальмонелл (от 5 до 8 серотипов) в замороженных двустворчатых моллюсках (страна происхождения – Вьетнам). По сравнению с 2012 г. сократилось количество выявлений сальмонелл в мясе (кроме мяса птицы), а в мясе птицы наоборот увеличилось до 171 (наибольший показатель за 2010–2015 гг.), при этом в 29 случаях выявлена *S. Heidelberg*, в 28 – *S. enteritidis*. Страной происхождения большей части полуфабрикатов и свежего мяса птицы была Бразилия. В кормах обнаружено 16 серовариантов сальмонелл; мясе (кроме мяса птицы) – 12; мясе птицы – 26; яйце и яичных продуктах – 2; рыбе и рыбной продукции – 3; молоке и молочной продукции – 2; ракообразных – 2; куколках насекомых – 1; в мороженом – 1.

По данным RASFF, в 2014 г. сальмонеллы чаще всего выявляли в мясе птицы и кормах. Можно предположить, что птица, употребляя обсемененные сальмонеллой корма, заболевает и становится носителем сальмонеллеза. Однако, анализируя данные системы RASFF, можно сделать вывод, что серотипы, наиболее часто обнаруживаемые в корме (*S. Agona*, *S. Mbandaka*, *S. Livingstone*), практически не встречаются в мясе птицы. В мясе птицы часто выявляют *S. enteritidis*

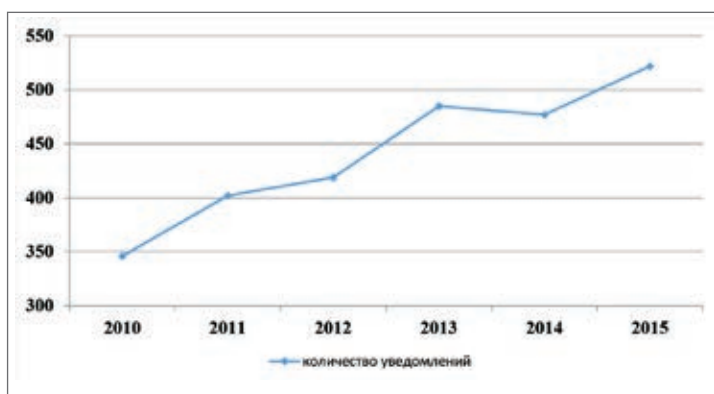


Рис. 1. Динамика роста уведомлений о выявлении бактерий рода *Salmonella* в системе RASFF в 2010–2015 гг.

и *S. typhimurium*. В 2014 г. в кормах обнаружено 27 серовариантов сальмонелл; мясе (кроме мяса птицы) – 15; мясе птицы – 17; жирах – 1; двустворчатых моллюсках – 2; яйце и яичных продуктах – 2; рыбе и рыбной продукции – 1; молоке и молочной продукции – 6; гастроподах – 1; ракообразных и продуктах из них – 2; субпродуктах – 4.

В 2015 г. по сравнению с 2014 г. уменьшилось количество уведомлений о выявлении сальмонелл в кормах для домашних животных (с 29 до 19 сообщений) и в кормах животного происхождения (с 56 до 38 сообщений). В 5 уведомлениях, сообщавших об обнаружении сальмонелл в ракообразных из Вьетнама, указывалось, что все они относятся к серотипу *S. enterica*. 58 уведомлений о выявлении бактерий рода *Salmonella* в мясе птицы поступило из Нидерландов, основными серотипами являлись *S. enterica*. В списке стран-производителей в 2015 г. лидирующие позиции занимали Бразилия, Польша, Таиланд, Германия, Бельгия и Франция. Всего за год в кормах обнаружен 21 серовариант сальмонелл; мясе – 24; двустворчатых моллюсках – 1; яйце и яичных продуктах – 3; рыбе и рыбной продукции – 1; молоке и молочной продукции – 5; ракообразных – 5.

Кормовые материалы (мясо-костная и перьевая мука, рыбная мука, обработанный животный белок) и корм для домашних животных являются основными источниками бактерий рода *Salmonella*, видовое разнообразие сальмонелл в этих категориях продукции преобладает над видовым разнообразием в других категориях. Причем сероварианты *Salmonella*, обнаруженные в кормовых материалах, в незначительной степени отличаются от таковых в кормах для домашних животных.

В 2010–2015 гг. поступило 118 уведомлений о выявлении *Salmonella* в рыбной муке, из них 34 уведомления касались муки, произведенной в Мавритании, 27 – в Марокко, 18 – в Чили, 11 – в Перу, 10 – в США, 6 – в Дании и др. Большинство уведомлений о выявлении сальмонелл в обработанных животных белках относятся к продукции производства Нидерландов, Франции, Испании, Германии, Мексики; в кормах для домашних животных – производства Индии, Польши, Бразилии, Мексики, Германии.

По данным отчетов Россельхознадзора, в Бразилии существует национальная программа PRP – Program of Pathogens Reduction (*Salmonella* spp. in poultry and turkey carcass) – программа сокращения патогенов (сальмонелл в мясе птицы и индейки). Но при инспектировании пред-

приятий по убою птицы, как и предприятий по производству мороженой продукции (креветки) и морепродуктов во Вьетнаме, выявлены грубые нарушения хранения и маркировки мясной продукции, общих санитарно-гигиенических требований, отсутствие надлежащего контроля за соблюдением персоналом предприятия общих ветеринарно-санитарных требований при перемещениях между чистыми и грязными зонами. В Бразилии при выявлении положительных результатов на сальмонеллез ни государственной ветеринарной службой, ни менеджментом этих предприятий не принимается никаких мер реагирования. Отмечена недостаточная организация контроля со стороны официальных компетентных органов и соответствующей службы предприятия за ветеринарно-санитарным состоянием производственных помещений и организацией производственных процессов. То же самое происходит и во Вьетнаме: в стране в рамках государственного мониторинга исследования морепродуктов по такому микробиологическому показателю, как *Salmonella*, не проводятся [6–9].

Выявление бактерий рода *Salmonella* в продуктах растительного происхождения. В 2010–2015 гг. от стран – членов RASFF поступило 1125 уведомлений

о выявлении бактерий рода *Salmonella* в продуктах и кормах растительного происхождения.

В 2010 г. после неоднократных уведомлений об обнаружении бактерий рода *Salmonella* в травах из Таиланда, в октябре этого же года был установлен обязательный отбор проб мяты, базилика и листьев кориандра в размере 10% от ввозимого количества в страны ЕС в соответствии с Регламентом ЕС № 669/2009 [20]. В течение всего года поступило 19 уведомлений о наличии сальмонелл в различных травах из Таиланда.

50% уведомлений о выявлении сальмонелл в продуктах из категории «орехи, орехопродукты и семена» относится к пробам кунжута из Турции. В целом в кормах растительного происхождения обнаружено 24 сероварианта сальмонелл; травах и специях – 14; фруктах и овощах – 5; орехах и семенах – 8; какао, какао-продуктах, кофе и чае – 2.

В 2011 г., по сравнению с 2010 г., возросло количество уведомлений по некоторым категориям продуктов, так же как и видовое разнообразие сальмонелл в них: во фруктах и овощах – 11 серовариантов; травах и специях – 24; какао, какао-продуктах, кофе и чае – 1; орехах и семенах – 3; кормах растительного происхождения – 27; премиксах – 1. О выявлении контаминированных сальмонеллой трав и специй размещено 55 уведомлений, 20 из которых были о продукции из Вьетнама, что составляет 36%.

В 2012 г., как и в 2011 г., больше всего уведомлений о выявлении *S. enterica* в смеси паан (листья бетелевой пальмы), произведенной в Бангладеш, поступило из Великобритании. В травах и специях из Турции, Германии, Индии также обнаружена *S. enterica*. Во фруктах и овощах выделено 9 серовариантов сальмонелл; травах и специях – 16; какао, какао-продуктах, кофе и чае – 1; орехах и семенах – 11; кормах растительного происхождения – 25; премиксах – 1; кормовых добавках – 1.

В 5 уведомлениях, относящихся к продукции растительного происхождения, сообщалось о наличии следующих серовариантов сальмонелл: в 4 уведомлениях – *S. enterica* в тахини из Сирии и в 1 уведомлении – *S. enterica* subsp. *salamae* II в порошке гуаровой камеди.

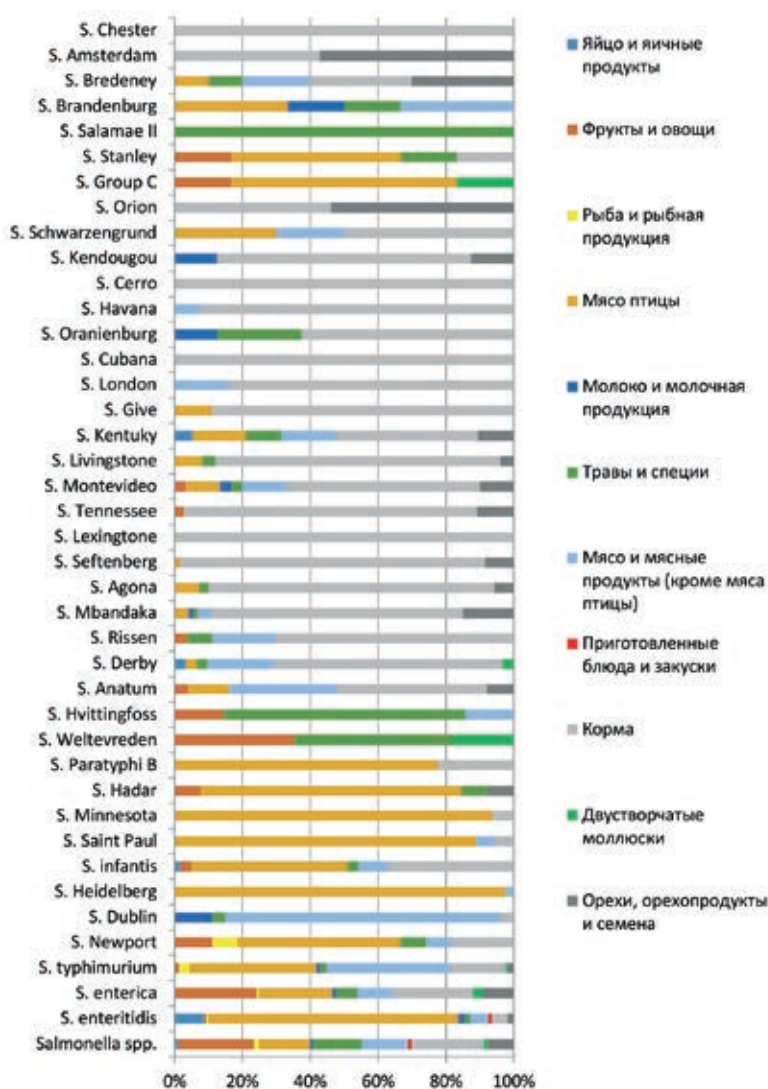
В 2013 г. наибольшее число уведомлений о выявлении сальмонелл во фруктах и овощах поступило из Великобритании. Серотип *S. enterica* по-прежнему обнаруживали в смеси паан, поставляемой из Бангладеш, Индии и Таиланда, и в кормах из Нидерландов, Италии и Аргентины.

В кормах растительного происхождения выделено 33 сероварианта сальмонелл; фруктах и овощах выделено 10; травах и специях – 12; орехах и семенах – 7; диетических продуктах, пищевых добавках, обогащенных продуктах – 1; соевом белковом продукте – 1.

В 2014 г. в системе RASFF размещено 23 уведомления о выявлении сальмонелл в кунжуте из Индии. С 2010 по 2014 г. ежегодно увеличивалось количество уведомлений о выявлении бактерий рода *Salmonella* в кормах растительного происхождения, в основном в рапсе и рапсовой муке, сое и соевой муке из Бразилии, Аргентины, Германии, Нидерландов, Италии.

В кормах растительного происхождения обнаружено 29 серовариантов сальмонелл; фруктах и овощах – 8; какао, какао-продуктах, кофе и чае – 1; кормовых добавках – 1; кормах для домашних животных – 1; травах и специях – 11; диетических продуктах, пищевых добавках, обогащенных продуктах – 3; орехах – 13.

Рис. 2. Серотипы *Salmonella*, зарегистрированные в системе RASFF в 2010–2015 гг.



В 2015 г. уменьшилось количество уведомлений о выявлении сальмонелл в кормах, а в листьях бетеля из Индии (78 уведомлений) и семенах кунжута из Индии (64 уведомления) увеличилось, за счет чего общее количество уведомлений возросло. В детском питании производства Нидерландов выявлена *S. enterica*, сообщение поступило из Германии. 24 уведомления поступило о выявлении на латвийской границе сальмонелл в рапсовых лепешках из Белоруссии. В кормах растительного происхождения обнаружено 18 серовариантов сальмонелл; фруктах и овощах – 12; какао, какао-продуктах, кофе и чае – 1; диетических продуктах, пищевых добавках, обогащенных продуктах – 4; травах и специях – 18; орехах и семенах – 23.

В 2013–2015 гг. в хлорелле китайского производства обнаружены *S. Rissen* и *S. Aberdeen*, в порошке моринги индийского производства – *S. enterica*.

Кроме того, в системе RASFF представлена информация о контаминации сальмонеллами следующей продукции растительного происхождения: ядра кедровых орехов, фундук, высушенная мякоть кокоса, кардамон, чеснок, мак, нут, арахисовое масло, мука и семена дыни, ядра подсолнечника, миндаль, чай, мюсли с орехами, карри, тмин, орегано, черный перец, петрушка, лавровый лист, чили, кориандр.

Выявление бактерий рода *Salmonella* в других (смешанных) пищевых продуктах и кормах. К категории других (смешанных) пищевых продуктов отнесены: бисквит, мюсли с орехами, макароны, гречневая мука, печенье, мука тофу, шоколад, халва с фисташками, шоколадные батончики с фундуком и кокосом, салатные заправки и салаты с курицей и ветчиной, рулетики с овощами, галактоолигосахарид и мальтодекстрин. В 2010–2015 гг. от стран – членов RASFF поступило 40 уведомлений о выявлении бактерий рода *Salmonella*: в кондитерских изделиях – 8; в зерне и хлебобулочных изделиях – 10; в комбикормах – 7; в пищевых добавках и ароматизаторах – 4; в приготовленных блюдах и закусках – 9; в супах, бульонах, соусах, приправах – 2. Преобладающими серотипами сальмонелл, выявленными в данных продуктах, являлись *S. enterica*, *S. Mbandaka*, *S. enteritidis*, *S. infantis*. Больше всего уведомлений поступило из Бельгии, Германии и Франции, а некачественные продукты были из Польши, Бельгии, Франции, Нидерландов и Германии.

Доля выявлений бактерий рода *Salmonella* в продукции животного и растительного происхождения, а также в других (смешанных) пищевых продуктах и кормах в 2010–2015 гг. представлена на рисунке 3.

3. Пищевые отравления, связанные с бактериями рода *Salmonella*, в странах Европейского союза (рис. 4). В 2010 г. зарегистрировано 6 случаев пищевых отравлений, в основном вызванных употреблением в пищу колбасных изделий, в следующих странах ЕС: Италия, Германия, Франция, Дания, Люксембург. В результате пострадало 663 человека. Эти данные касаются тех инцидентов, уведомления о которых размещены в системе RASFF, и не охватывают все случаи пищевых отравлений, которые произошли в странах ЕС.

Причиной пищевых отравлений наибольшего числа заболевших из всех случаев, зарегистрированных в RASFF в 2010 г., стала *Salmonella* из замороженных сырых бургеров с говядиной из Италии. Ретроспективное исследование коллективной вспышки заболевания в 4 учебных заведениях Франции позволило

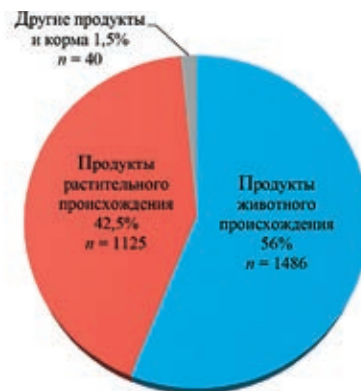


Рис. 3. Распространение бактерий рода *Salmonella* в пищевых продуктах и кормах

выделить сальмонеллу у 554 заболевших человек из 1559 лиц, подвергшихся воздействию указанного пищевого продукта. Наличие *Salmonella* было подтверждено в 13 отобранных для исследования гамбургерах [20].

В 2011 г. в систему RASFF сообщено о 7 вспышках пищевого отравления, связанных с употреблением в пищу замороженных морепродуктов, куриных яиц, томатов, мясных и кулинарных продуктов и произошедших в таких странах, как Швеция, Исландия и Финляндия. Дважды вспышки возникали в Дании и Франции. Пострадало не менее 134 человек [21].

В 2012 г. зарегистрировано 5 вспышек сальмонеллеза, во время которых заболело 63 человека. 1 из 5 случаев вызван *S. Oranienburg* из сухого молока, произведенного в Бельгии из сырья Южной Кореи. Сухое молоко использовалось для изготовления детского питания, пострадало 16 жителей Бельгии. В Италии заболеваемость сальмонеллезом зафиксирована при употреблении мясных продуктов из Румынии, в Австрии – яичного продукта из Франции. В 20 штатах США с 14 июня по 21 сентября 2012 г. зарегистрирован 41 случай заболевания людей, инфицированных *S. Bredeney*. В ходе проведенных исследований выяснилось, что данный серотип присутствовал в арахисовом масле и продуктах на его основе, распространенных во Франции, Италии, Норвегии, Великобритании [22].

В 2013 г. 4 вспышки сальмонеллеза зарегистрированы в Швеции, Франции, Великобритании, Финляндии, где пострадало 100 человек, которые употребляли в пищу хлореллу из Китая, яйца из Испании, вареную ветчину из Великобритании, соленое куриное филе из Таиланда [23].

В 2014 г. большинство уведомлений об обнаружении сальмонелл в молочных продуктах, яйце и яичных продуктах, диетической пище, пищевых добавках и кормах относилось к продуктам, произведенным во Франции и Германии. Всего за год в странах Европы зарегистрировано 11 вспышек сальмонеллеза: дважды в Германии и Австрии, трижды во Франции, Италии, Великобритании, Люксембурге. В результате пострадало 238 человек. Причиной послужило употребление в пищу мясных и молочных продуктов, яиц и тигровых креветок. В частности, *S. enteritidis* была идентифицирована у больных после употребления домашнего мороженого, приготовленного с использованием сырых яиц производства Германии. Неделий позже Франция сообщила о второй вспышке, вызванной *Salmonella*,

случай заболевания связан с употреблением домашнего шоколадного крема, при приготовлении которого использовались сырые яйца, поставленные Германией. Анализ оставшихся яиц показал наличие бактерий рода *Salmonella*. Яйца немецкого производителя были отозваны из торговой сети [24].

В начале 2015 г. из Франции поступило 2 уведомления о вспышках, вызванных *S. enteritidis*, пострадал 71 человек. В обоих случаях причиной инфекции оказалось употребление мясного фарша польского производства. Затем последовало еще 2 уведомления. Всего зарегистрировано 9 вспышек сальмонеллеза во Франции, Швеции, Австрии, Нидерландах, Венгрии, 4 из которых вызваны *S. enteritidis*, обнаруженной в мясных продуктах, сушеных овощах и молочных продуктах. Некачественными продуктами оказались также мясо птицы и порошок тмина. В Нидерландах зарегистрировано 2 вспышки сальмонеллеза, причиной стало употребление в пищу говядины из Литвы и Польши. В целом в 2015 г. пострадало не менее 388 человек [25].

Согласно данным эпидемиологических отчетов Европейского центра профилактики и контроля заболеваний, сальмонеллез является второй наиболее часто сообщаемой желудочно-кишечной инфекцией и главной причиной вспышек пищевого происхождения в странах ЕС.

В 2011 г. подтверждены 96 883 случая сальмонеллеза в 29 странах ЕС, подтвержденный показатель заболеваемости составил 20,4 случая на 100 000 населения. Чаще всего подтвержденные случаи были отмечены в Чешской Республике (80,69 случая на 100 000 населения), Словакии (71,70) и Литве (70,70). Греция, Ирландия, Италия, Португалия и Румыния сообщили о менее чем 10 случаях на 100 000 населения. В 2011 г. наиболее часто выявляли *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, монофазную *S. typhimurium*, *S. infantis* и *S. Newport*. По сравнению с 2010 г. количество случаев инфицирования *S. enteritidis* снизилось на 6%, *S. typhimurium* – на 9%. Значительное увеличение выявления монофазной *S. typhimurium* (157%) произошло из-за 2 крупных вспышек болезней пищевого происхождения во Франции (682 случая и 337 случаев заболевания). В список наиболее распространенных сероваров в 2011 г. внесена *S. Poona*, как причина 548 случаев заболевания сальмонеллезом, большая часть которых была зарегистрирована в Испании у младенцев из-за контаминированной молочной смеси [15].

В 2012 г. 29 стран Европейской экономической зоны (ЕЭЗ) сообщили о 92 438 подтвержденных случаях сальмонеллеза, показатель заболеваемости составил 21,9 случая на 100 000 населения. Самые высокие подтвержденные показатели зарегистрированы в Чешской Республике (97,5 случая на 100 000 населения) и Словакии (85,6). 4 страны – Греция, Ирландия, Португалия и Румыния – сообщили о менее чем 10 случаях на 100 000 населения. Значительную тенденцию к росту наблюдали во Франции и Нидерландах. В 2012 г. в странах ЕС/ЕАОС зарегистрировано 4 вспышки сальмонеллеза. В Нидерландах при возникновении очень крупной вспышки сальмонеллеза подтвердили 866 случаев, связанных с употреблением копченого лосося, контаминированного *S. Thompson*. В январе 2012 г. Германия сообщила о вспышке сальмонеллеза вследствие употребления в пищу арбу-

зов из Бразилии, обработанных в Великобритании, установив сходство немецких изолятов *S. Newport* с бразильскими изолятами, выделенными в Великобритании и зарегистрированными в декабре 2011 г. в системе RASFF. Изолят также был идентифицирован в Соединенном Королевстве (в Англии и Уэльсе 32 случая, в Шотландии и Ирландии по 4 случая) в основном в декабре 2011 г. [15].

В период с августа 2011 г. по декабрь 2012 г. выявлено 688 случаев инфицирования *S. Stanley*, связанных с употреблением мяса индейки, в 10 странах ЕС: Венгрии, Австрии, Германии, Бельгии, Великобритании, Швеции, Италии, Греции, Чешской и Словацкой республиках. В 2012 г. наиболее распространенными серотипами были *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, монофазная *S. typhimurium*, *S. infantis* и *S. Stanley*. В конце августа 2012 г. Нидерланды сообщили о выявлении 34 случаев заболевания сальмонеллезом, вызванных *S. Thompson*. Когда вспышка была заявлена, было зарегистрировано и подтверждено 1149 случаев с 4 летальными исходами среди пожилых пациентов [15, 16, 19].

В 2014 г. 30 странами ЕС/ЕАОС зарегистрировано 91 408 случаев сальмонеллеза, из них лабораторно подтверждено 89 883 (25,4 случая на 100 000 населения). Считается, что снижение количества случаев сальмонеллеза связано с реализацией программ контроля сальмонеллезной инфекции в птицеводстве, особенно среди кур-несушек и бройлеров. Тем не менее сальмонеллез остается вторым по распространенности зоонозом у людей в странах ЕС [19].

Существует четкая сезонная вариация числа зарегистрированных случаев сальмонеллеза, причем число случаев, увеличивающихся в течение летних месяцев, достигает максимума в августе и сентябре, а затем уменьшается. В 2014 г. летний пик был несколько менее выражен, чем в предыдущие 4 года [19].

Самые высокие показатели заболеваемости сальмонеллезом в 2014 г. зарегистрированы в Чешской (126,1 случая на 100 000 населения) и Словацкой (75,3) республиках, за ними следуют Венгрия (53,1) и Испания (47,5); самые низкие – в Португалии и Греции ($\leq 4,0$). В 2014 г. произошло 1048 вспышек сальмонеллеза, что соответствует 20% всех зарегистрированных вспышек заболеваний пищевого происхождения, при этом контаминированные сальмонеллами яйца и яичные продукты наиболее часто были установленной причиной [19].

В 2015 г. 30 странами ЕС/ЕАОС зарегистрировано 97 114 случаев сальмонеллеза, из них лабораторно подтверждено 95 595 (22,9 случая на 100 000 населения). По сравнению с 2014 г. показатели уведомления ЕС/ЕАОС увеличились на 6%. Самые высокие показатели зарегистрированы в Чешской (117,7 случая на 100 000 населения) и Словацкой (89,3) республиках, осуществляющих активный надзор за сальмонеллезом, за ними следуют Венгрия (49,7) и Испания (43,3); самые низкие – в Португалии и Греции ($\leq 5,0$). Значительное увеличение числа уведомлений произошло в Болгарии (48%) и Франции (15%) и соответствовало увеличению числа вспышек сальмонеллеза в этих странах [18].

Регламент (ЕС) № 1003/2005 для обнаружения и контроля сальмонелл обязывает проверять все поголовье родительского племенного стада птицы. Регламент (ЕС) № 646/2007 ставил целью достичь сокращения показателя распространения *S. enteritidis* и *S. typhimurium* в по-

голове бройлеров, а Регламент (ЕС) № 584/2008 – снижения к 31 декабря 2012 г. распространенности этих серотипов у индеек до уровня, не превышающего 1% в родительских стадах и на этапе откорма. Все эти мероприятия привели к уменьшению количества случаев заболевания людей сальмонеллезом, вызванными данными серотипами. Однако снижения распространенности других наиболее часто встречаемых среди птиц серотипов сальмонелл не произошло. Серотипы с множественной устойчивостью к антибиотикам и/или с высокой устойчивостью к ципрофлоксацину, например *S. Kentucky*, *S. Stanley* и *S. infantis*, также распространяются среди животных и людей в странах ЕС [19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Законодательством ЕС не установлены микробиологические критерии по содержанию бактерий рода *Salmonella* в сырье, уведомления в системе RASFF основываются на национальных стандартах по данному показателю или в каждом конкретном случае на основе оценки риска. Для обработанных продуктов животного происхождения в Регламенте (ЕС) № 142/2011 установлен критерий, определяющий отсутствие сальмонеллы в 25 г продукта.

С 2010 по 2015 г. в системе RASFF зафиксировано 2651 уведомление о выявлении бактерий рода *Salmonella* в продуктах и кормах, преимущественно в мясе птицы, кормах, фруктах и овощах, мясе и мясных продуктах, травах, специях и орехах. За указанный период отмечалось ежегодное увеличение количества уведомлений о выявлении бактерий рода *Salmonella* в пищевых продуктах – с 346 сообщений в 2010 г. до 522 сообщений в 2015 г.

Самой многочисленной группой по количеству выявлений бактерий рода *Salmonella* с 2010 по 2013 г. являлись корма. Ситуация изменилась в 2013–2015 гг., в этот период на первом месте стояли продукты из категории «мясо птицы и продукты из мяса птицы», а кормовые материалы занимали вторую позицию.

В 2010–2015 гг. в продуктах и кормах обнаружены бактерии рода *Salmonella* 154 серовариантов. Серовариантное разнообразие сальмонелл изменяется ежегодно и в целом имеет тенденцию к увеличению. Преобладающими серотипами *Salmonella*, согласно данным RASFF, являлись: *S. enterica* – 32,4%; *Salmonella* spp. – 18,8%; *S. enteritidis* – 6,3%; *S. typhimurium* – 4,6%; *S. Agona* – 2,6%; *S. Lexington* – 1,4%. Только в кормах выявлено 99 серовариантов сальмонелл, большинство из них, такие как *S. enterica*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. infantis*, *S. Kentucky*, *S. Give*, обнаруживали и в мясе птицы. Такие серотипы, как *S. Agona*, *S. Mbandaka* и *S. Livingstone*, также часто обнаруживали в кормах, но практически не выявляли в мясе птицы.

Среди стран – производителей продукции, не соответствующей требованиям безопасности по данному микробиологическому показателю, отмечены Бразилия, Германия, Индия, Польша, Бангладеш, Нидерланды, Франция, Таиланд, Италия, Мавритания, Марокко, Чили, США.

Бактерии рода *Salmonella* выявляли в курином мясе (19,5%), кормах для собак и кошек (5,6%), свинине (3,7%) и рыбной муке (5,1%).

С 2010 по 2014 г. ежегодно увеличивалось количество уведомлений о выявлении бактерий рода *Salmonella* в кормах растительного происхождения,

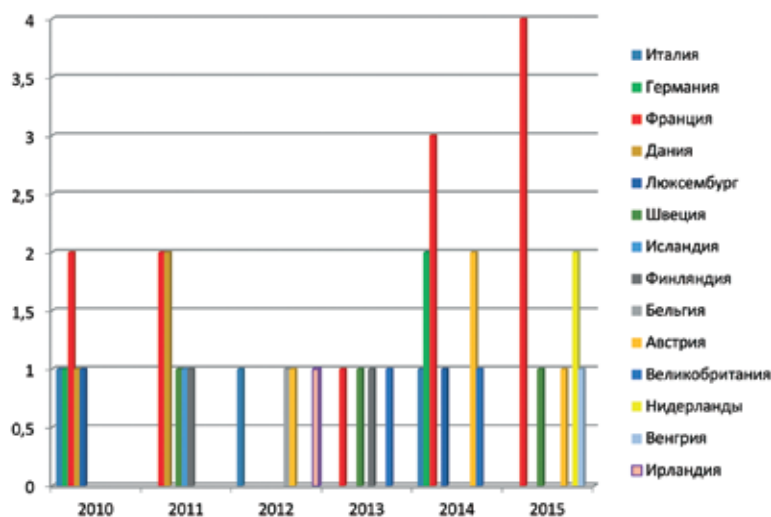


Рис. 4. Количество вспышек сальмонеллеза в 2010–2015 гг. среди населения стран Евросоюза согласно данным RASFF

в основном в сое и соевой муке (6,8%), рапсе и рапсовой муке (4,4%) из Бразилии, Аргентины, Германии, Нидерландов, Италии.

В 2010–2015 гг. в системе RASFF зарегистрировано 42 вспышки сальмонеллеза, в результате которых заболело 1586 человек. Источниками *Salmonella* являлись не только яичная, мясная и молочная продукция, но и арбузы, томаты, тмин, морепродукты, хлорелла, арахисовое масло и продукты на основе арахиса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альманах ЕС по безопасности продуктов питания / под ред. Л. Хергес, С. Каус, Г.-Ф. Бёль, Н. Гольник. – 4-е изд., обновл. и пересмотр. – Берлин: Немецкий федеральный институт оценки рисков, 2017. – 160 с.
2. ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002). Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. – М.: Стандартинформ, 2014. – 20 с.
3. Зараженность сальмонеллами продукции птицеводства / Е. О. Чугунова, Н. А. Татарникова, Т. С. Прохорова, О. Г. Мауль // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 6. – URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=15850> (дата обращения: 18.05.18).
4. Мезенцев С. В. Распространение сальмонелл в продукции животноводства // Практик. – 2010. – № 2. – С. 6–11.
5. МУ 4.2.2723-10. Лабораторная диагностика сальмонеллезом, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды. Биологические и микробиологические факторы. – М.: ФГУН «ЦНИИ эпидемиологии», Роспотребнадзор, 2011. – 111 с.
6. Окончательный отчет о проведении полномочными органами государств – членов Таможенного союза работы по изучению эффективности инспекционной системы ветеринарной службы Бразилии и обеспечению гарантий безопасности продукции животного происхождения, предназначенной для поставок на территорию государств – членов Таможенного союза, и инспекции предприятий Бразилии по производству продукции животного происхождения, заинтересованных в поставках своей продукции на территорию государств – членов Таможенного союза (с 28.11.2011 г. по 09.12.2011 г.). – URL: http://portal.fsvps.ru/sites/fsvps/documents/1485966755881_inspection_final.pdf.
7. Окончательный отчет о служебной командировке специалистов ветеринарных служб государств – членов Таможенного союза в Бразилию (30.06.–14.07.2013 г.). – URL: http://portal.fsvps.ru/sites/fsvps/documents/1485966755935_inspection_20130914_final.pdf.
8. Отчет о служебной командировке специалистов ветеринарных служб государств – членов Таможенного союза в Социалистическую Республику Вьетнам (02.–11.12.2013 г.). – URL: http://portal.fsvps.ru/sites/fsvps/documents/1485966761456_inspection_15_05_2014.pdf.
9. Предварительный отчет о проведении специалистами Россельхознадзора инспекции рыбоперерабатывающих предприятий Социалистической Республики Вьетнам (30.11.–04.12.2015 г.). – URL: http://portal.fsvps.ru/sites/fsvps/documents/1485966761510_inspection_2015121104_pre.pdf.

10. Регламент (ЕС) № 2160/2003 Европейского Парламента и Совета от 17 ноября 2003 г. по контролю сальмонеллы и других пищевых зоонозных агентов. – URL: https://asia-business.ru/standarts/reglament_2160.doc.

11. Регламент Комиссии (ЕС) № 1688/2005 от 14 октября 2005 г. – URL: https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/laws/eu/1688_2005.pdf.

12. Сальмонелла (небрюшнотифозная) / WHO. – URL: [http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)).

13. Сальмонеллез. – URL: http://bib.social/pediatrica_1044/salmonellez-90074.html (дата обращения: 17.05.18).

14. *Salmonella* (сальмонелла). – URL: <http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3287> (дата обращения: 18.05.18).

15. Annual Epidemiological Report 2013. – URL: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonellosis-annual-epidemiological-report-2013> (дата обращения: 15.05.18).

16. Annual Epidemiological Report 2014 – Food- and waterborne diseases and zoonoses. – Stockholm: ECDC, 2014. – URL: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/food-waterborne-diseases-annual-epidemiological-report-2014.pdf> (дата обращения: 17.05.18).

17. RASFF – Food and Feed Safety Alerts / European Commission. – URL: https://ec.europa.eu/food/safety/rasff_en.

18. Salmonellosis – Annual Epidemiological Report for 2015. – URL: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonellosis-annual-epidemiological-report-2015> (дата обращения: 17.05.18).

19. Salmonellosis – Annual Epidemiological Report 2016 [2014 data] / European Centre for Disease Prevention and Control. – URL: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonellosis-annual-epidemiological-report-2016-2014-data> (дата обращения: 17.05.18).

20. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2010. – URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2010_en.pdf.

21. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2011. – URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2011_en.pdf.

22. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2012. – URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2012_en.pdf.

23. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2013. – URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2013.pdf.

24. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2014. – URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2014.pdf.

25. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2015. – URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2015.pdf.

REFERENCES

1. EU Food Safety Almanac. Ed. Dr. Lea Herges, Dipl.-Ing. Susanne Kaus, PD Dr. Gaby-Fleur Böhl, Dr. Nicole Gollnick. 4th updated and revised edition. Berlin: Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR), 2017.

2. GOST 31659-2012 (ISO 6579:2002). Food products. Method for the detection of *Salmonella* spp. M.: Standartinform, 2014 (in Russian).

3. Poultry product contamination with *Salmonella* [Zarazhennost' sal'monellami produktsii pticevodstva]. Ye.O. Chugunova, N. A. Tatarnikova, T. S. Prokhorova, O. G. Maul. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014; 6. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=15850> (accession date: 18.05.18) (in Russian).

4. Mezentshev S. V. Spread of *Salmonella* in livestock products [Rasprostraneniye sal'monell v produktsii zhivotnovodstva]. *Praktik*. 2010; 2: 6–11 (in Russian).

5. MI 4.2.723-10. Laboratory diagnosis of salmonellosis, *Salmonella* detection in food and environment. Biological and microbiological factors [Laboratornaya diagnostika sal'monellezov, obnaruzheniye sal'monell v pishchevykh produktakh i ob'ektah okruzhayushchei sredy. Biologicheskie i mikrobiologicheskie faktory]. M.: FBIS "Central Research Institute of Epidemiology", Rosпотребнадзор, 2011 (in Russian).

6. Final report on inspection carried out by the authorized authorities of the Customs Union member-states in regard of performance of the Veterinary Service of Brazil and food safety guarantees provided for goods imported into the CU member-states as well as on inspection of the establishments interested in their product exports to the CU member-states [Okonchatel'nyy otchet o provedenii upolnomochennymi organami gosudarstv – chlenov Tamozhennogo soyuza raboty po izucheniyu ehffektivnosti inspektsionnoy sistemy veterinarnoy sluzhby Brazili i obespecheniyu

garantii bezopasnosti produktsii zhivotnogo proiskhozhdeniya, prednaznachennoy dlya postavok na territoriyu gosudarstv – chlenov Tamozhennogo soyuz, i inspektsii predpriyatij Brazili po proizvodstvu produktsii zhivotnogo proiskhozhdeniya, zainteresovannykh v postavkakh svoey produktsii na territoriyu gosudarstv – chlenov Tamozhennogo soyuza] (from November, 2011 to December 09, 2012). URL: http://portal.fsvps.ru/sites/fsvps/documents/1485966755881_inspection_final.pdf (in Russian).

7. Final report on the mission of the CU veterinary experts to Brazil [Okonchatel'nyy otchet o sluzhebnoy komandirovke specialistov veterinarnykh sluzhzb gosudarstv – chlenov Tamozhennogo soyuza v Braziliyu] (30.06.–14.07.2013 r.). URL: http://portal.fsvps.ru/sites/fsvps/documents/1485966755935_inspection_20130914_final.pdf (in Russian).

8. Final report on the mission of the CU veterinary experts to Socialist Republic of Vietnam [Otchet o sluzhebnoy komandirovke specialistov veterinarnykh sluzhzb gosudarstv – chlenov Tamozhennogo soyuza v Socialisticheskuyu Respubliku V'etnam] (02–11.12.2013 r.). URL: http://portal.fsvps.ru/sites/fsvps/documents/1485966761456_inspection_15_05_2014.pdf (in Russian).

9. Draft report on inspection of fish processing plants of the Socialist Republic of Vietnam performed by the Rosselkhoz nadzor experts [Predvaritel'nyy otchet o provedenii specialistami Rosssel'khoz nadzora inspektsii ryboprerabatyvayushchikh predpriyatij Socialisticheskoy Respubliki V'etnam] (30.11.–04.12.2015 r.). URL: http://portal.fsvps.ru/sites/fsvps/documents/1485966761510_inspection_2015121104_pre.pdf (in Russian).

10. Regulation (EU) No. 2160/2003 of European Parliament and Council of November 17, 2003 on the control of salmonella and other specified food-borne zoonotic agents [Reglament (EC) № 2160/2003 Evropejskogo Parlamenta i Soveta ot 17 noyabrya 2003 g. po kontrolyu sal'monelly i drugih pishchevykh zoonoznykh agentov]. URL: https://asia-business.ru/standarts/reglament_2160.doc (in Russian).

11. Commission Regulation (EC) No. 1688/2005 of October 14, 2005 [Reglament Komissii (ES) № 1688/2005 ot 14 oktyabrya 2005 g.]. URL: https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/laws/eu/1688_2005.pdf (in Russian).

12. *Salmonella* (non-typhoidal). WHO. URL: [http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](http://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)).

13. Salmonellosis. URL: http://bib.social/pediatrica_1044/salmonellez-90074.html (accession date: 17.05.18) (in Russian).

14. *Salmonella*. URL: <http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3287> (accession date: 18.05.18) (in Russian).

15. Annual Epidemiological Report 2013. URL: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonellosis-annual-epidemiological-report-2013> (accession date: 15.05.18).

16. Annual Epidemiological Report 2014 – Food- and waterborne diseases and zoonoses. Stockholm: ECDC, 2014. URL: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/food-waterborne-diseases-annual-epidemiological-report-2014.pdf> (accession date: 17.05.18).

17. RASFF – Food and Feed Safety Alerts / European Commission. URL: https://ec.europa.eu/food/safety/rasff_en.

18. Salmonellosis – Annual Epidemiological Report for 2015. URL: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonellosis-annual-epidemiological-report-2015> (accession date: 17.05.18).

19. Salmonellosis – Annual Epidemiological Report 2016 [2014 data]. European Centre for Disease Prevention and Control. URL: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/salmonellosis-annual-epidemiological-report-2016-2014-data> (accession date: 17.05.18).

20. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2010. URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2010_en.pdf.

21. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2011. URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2011_en.pdf.

22. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2012. URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2012_en.pdf.

23. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2013. URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2013.pdf.

24. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2014. URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2014.pdf.

25. The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF). Annual Report 2015. URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2015.pdf.

Поступила 24.08.18

Принята в печать 28.09.18



АНАЛИЗ ИЗМЕНЕНИЙ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ И БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ ПРИ АДАПТАЦИИ К ПЕРЕВИВАЕМОЙ КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК

Али Мазлум¹, Н. Г. Зиняков², А. С. Першин³, И. В. Шевченко⁴, И. Ю. Жуков⁵, Д. Н. Федосеева⁶, Д. В. Шарыпова⁷, А. С. Иголкин⁸, Н. Н. Власова⁹

¹ Сотрудник референтной лаборатории по АЧС, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: ali.mazlout6@gmail.com

² Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: zinyakov@arriah.ru

³ Научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: pershin_as@arriah.ru

⁴ Научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shevchenko@arriah.ru

⁵ Ведущий биолог, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: zhukov@arriah.ru

⁶ Сотрудник референтной лаборатории по АЧС, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: fedoseeva@arriah.ru

⁷ Сотрудник референтной лаборатории по АЧС, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: sharipova@arriah.ru

⁸ Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

⁹ Главный научный сотрудник, доктор биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

К настоящему времени функции многих генов и членов мультигенных семейств вируса африканской чумы полностью не изучены. В частности, не установлены гены, непосредственно обуславливающие вирулентность вируса для организма свиньи. Идентификация таких генов делает возможным создание делетированных мутантных штаммов вируса АЧС, а также разработку и испытание экспериментальных безопасных вакцин на их основе. При изучении основ патогенности и иммуногенности вируса АЧС основным методом является сравнительный анализ биологических свойств вируса и выявление различий в структуре его генома, влияющих на определенные фенотипические признаки. Наиболее интересным и эффективным подходом к решению данной проблемы является анализ изменений структуры генов при адаптации вируса АЧС к репродукции в перевиваемой культуре клеток. Эти факторы обусловили необходимость получения варианта вируса АЧС, адаптированного к росту в перевиваемой культуре клеток. В процессе адаптации изолята

Одинцово 02/14 вируса АЧС к репродукции в культуре клеток CV-1 удалось получить варианты вируса с измененными биологическими свойствами. При заражении свиней адаптированным вариантом вируса 30-го пассажа летальность составила 16,7%, причем все выжившие животные приобрели устойчивость к повторному заражению гомологичным вирулентным изолятом Arm 07. Следует отметить, что пассирование вируса в непермисивной культуре клеток до 30 последовательных пассажей не привело к изменению его генотиповой принадлежности, однако в правой вариабельной концевой области генома появилась крупная делеция размером около 3000 п. н., аналогичная таковой в геноме штамма BA71V, адаптированного к росту в перевиваемой культуре клеток Vero.

Ключевые слова: вирус африканской чумы свиней, адаптация, перевиваемая культура клеток CV-1, генотиповая принадлежность, биопроба, полногеномное секвенирование, генетическая структура, биологические свойства.

UDC 619:616.98:579.852.11

ANALYSIS OF CHANGES IN AFRICAN SWINE FEVER VIRUS GENETIC STRUCTURE AND BIOLOGICAL PROPERTIES DURING ADAPTATION TO CONTINUOUS CELL CULTURE

Ali Mazlout¹, N. G. Zinyakov², A. S. Pershin³, I. V. Shevchenko⁴, I. Yu. Zhukov⁵, D. N. Fedoseyeva⁶, D. V. Sharypova⁷, A. S. Igolkin⁸, N. N. Vlasova⁹

¹ Specialist of the Reference Laboratory for African swine fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: ali.mazlout6@gmail.com

² Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: zinyakov@arriah.ru

³ Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: pershin_as@arriah.ru

⁴ Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shevchenko@arriah.ru

⁵ Leading Biologist, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: zhukov@arriah.ru

⁶ Specialist of the Reference Laboratory for African swine fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: fedoseeva@arriah.ru

⁷ Specialist of the Reference Laboratory for African swine fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: sharipova@arriah.ru

⁸ Head of Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

⁹ Chief Researcher, Doctor of Science (Biology) FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru

SUMMARY

Functions of many African swine fever virus genes and multigene family members have not been yet understood. In particular, no virus genes directly associated with pig virulence have been identified. Identification of such genes will enable preparation of deletion mutant ASF virus strains as well as development and testing of pilot safe vaccines based on the said virus strains. Comparative analysis of the virus biological characteristics and detection of differences in its genome structure affecting certain phenotypic features is a main method used for the virus basic pathogenicity and immunogenicity examination. The most interesting and effective approach to addressing this problem is an analysis of changes in the gene structure during ASF virus adaptation to replication in continuous cell culture. The said factors have made continuous cell culture-adapted variant ASF virus preparation necessary. Variant viruses with modified biological

features were prepared during adaptation of ASFV Odintsovo 02/14 isolate to replication in CV-1 cell culture. Lethality level was 16.7% when pigs were infected with adapted variant virus at 30th passage and survived animals became resistant to reinfection with homologous virulent ASFV Arm07 isolate. It should be noted that the virus passage in non-permissive cell culture up to 30 serial passages did not result in changes in its genotype; however, a large 3,000 bp deletion similar to that one in continuous Vero-cell culture-adapted BA71V strain genome appeared in right terminal variable region of the genome.

Key words: African swine fever virus, adaptation, continuous CV-1 cell culture, genotyping, bioassay, whole genome sequencing, genetic structure, biological properties.

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) – вирусная болезнь домашних и диких свиней, характеризующаяся высокой летальностью и контагиозностью и протекающая в сверхострой, острой, подострой, хронической или инаппарантной форме. Как правило, в начале эпизоотии вирус вызывает сверхострую или острую форму течения болезни с высокой степенью патогенности (смертность приближается к 100%), далее вирулентность циркулирующего вируса постепенно снижается [4–6].

Так, в Португалии в 1960 г. зарегистрировали вспышку, обусловленную распространением высоковирулентного вируса АЧС, вызывающего 100%-ю гибель зараженных животных, а через 8 лет циркуляции вируса обнаружили низковирулентный изолят, введение которого обеспечивало у животных выработку иммунитета к последующему заражению исходным изолятом [12].

Распространение АЧС наносит огромные экономические потери, которые складываются из прямых и косвенных затрат на проведение ветеринарно-санитарных и карантинных мероприятий, убоя всего поголовья в очаге, первой угрожаемой зоне и ограничений в международной торговле [4, 8].

Очевидно, что для своевременного купирования и ликвидации вспышки АЧС необходимо скорейшее выявление заболевших животных, когда ранняя диагностика дает наилучший эффект в деле защиты здоровья животных и представляет собой крайне сложную составляющую любой эффективно действующей системы надзора за болезнью.

Одним из основных этапов предотвращения распространения заболевания является разрыв эпизоотической цепи, а именно купирование путей передачи возбудителя и элиминация факторов распространения. С этой целью при выполнении надзорных мероприятий по профилактике АЧС и борьбе с ней устанавливаются пути и факторы распространения возбудителя.

Уникальные свойства вируса в сочетании с отсутствием средств специфической профилактики и лечения болезни превращают АЧС в глобальную угрозу свиноводству в нашей стране и за рубежом. Вот почему разработка и совершенствование эффективных мер борьбы с АЧС требуют дальнейшего многостороннего изучения болезни и ее возбудителя.

Вирус АЧС – единственный ДНК-содержащий арбовирус. Размер его генома варьирует от 170 до 193 т. п. н. и содержит от 150 до 167 открытых рамок считывания (ОРС), в зависимости от изолята. ОРС близко расположены друг к другу, имеют перекрывающиеся области и считываются с обеих цепей ДНК [10, 11].

Функции многих генов и членов мультигенных семейств вируса АЧС к настоящему времени полностью не изучены. В частности, не установлены гены, непосредственно обуславливающие вирулентность вируса для организма свиньи. Идентификация таких генов сделает возможным создание deletированных мутантных штаммов вируса АЧС, а также разработку и испытание экспериментальных безопасных вакцин на их основе [6, 10].

При изучении основ патогенности и иммуногенности вируса АЧС основным методом является сравнительный анализ биологических свойств вируса и выявление различий в структуре его генома, влияющих на определенные фенотипические признаки.

Наиболее интересным и эффективным подходом к решению данной проблемы является анализ из-

менений структуры генов при адаптации вируса АЧС к репродукции в перевиваемой культуре клеток, что позволяет выяснить основы патогенности изучаемых вариантов вируса.

Эти факторы обусловили необходимость получения варианта вируса АЧС, адаптированного к росту в перевиваемой культуре клеток. Целью работы был анализ изменений, происходящих в процессе адаптации изолята Одинцово 02/14 вируса АЧС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Образцы проб, содержащие вирус АЧС, были получены сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ» при проведении адаптации вируса на культуре клеток CV-1.

Первичную и перевиваемую культуру клеток CV-1 выращивали в питательной среде Игла с добавлением 10% бычьей фетальной сыворотки.

Для изучения биологических свойств адаптированного варианта вируса, определения его способности вызывать заболевание и исследования возможных изменений характеристик возбудителя проводили постановку биопробы посредством заражения поросят изучаемым материалом согласно «Методическим рекомендациям по постановке биопробы с заражением свиней вирусом африканской чумы свиней» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Одновременно выполняли оценку уровня контагиозности изучаемых образцов вируса. Для этого использовали незараженных поросят, содержащихся совместно с зараженными и больными животными.

Наблюдение за животными осуществляли ежедневно, проводя визуальный контроль клинических признаков и ректально измеряя температуру тела каждого подсвинка, в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке клинических признаков и патологоанатомических изменений при экспериментальном заражении вирусом африканской чумы свиней» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»). С периодичностью через 2 дня на 3-й у всех животных отбирали пробы крови, а также назальные и ректальные мазки для установления генерализации инфекции с выделением вируса.

Для выявления наличия вируса АЧС в испытуемых образцах и уровня виремии использовали реакцию геммадсорбции в культуре клеток костного мозга свиней (КМС), ПЦР-анализ и реакцию прямой иммунофлуоресценции согласно «Методическим рекомендациям по получению типоспецифической сыворотки крови свиней к вирусу африканской чумы свиней для постановки реакции задержки геммадсорбции», «Методическим рекомендациям по выявлению генома вируса африканской чумы свиней методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени» и «Методическим указаниям по выявлению вируса африканской чумы свиней в пробах крови и патологических материалов, отобранных от павших или вынужденно убитых свиней, в реакции прямой иммунофлуоресценции (РПИФ)» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Для постановки ПЦР использовали «Тест-систему для диагностики африканской чумы свиней методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Для анализа изменчивости генома в процессе адаптации провели полногеномное секвенирование при использовании реагентов Nextera XT DNA Library Prep

Kit на платформе секвенатора Illumina MiSeq (Illumina, USA).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки возможности выявления изменений биологических свойств и аттенуации вируса АЧС необходимо было провести адаптацию к росту в перевиваемой культуре клеток CV-1 и определить биологические и молекулярно-генетические характеристики данного вируса.

Адаптация. Первичный вирусосодержащий материал изолята Одинцово 02/14 был накоплен в культуре клеток КМС с титром $7,21 \pm 0,36 \lg \text{ГДЕ}_{50}/\text{см}^3$. Полученный вирусосодержащий материал в соотношении 1:10 (v/v) был инокулирован в культуру клеток CV-1, в которой впоследствии было проведено 30 последовательных пассажей аналогичным способом. Причем следует отметить, что эффективная репродукция вируса АЧС в культуре клеток CV-1 регистрировалась только начиная с 12-го пассажа. Результаты экспериментов приведены в таблице 1.

В процессе пассирования в культуре клеток CV-1 к 20-му пассажу (табл. 1) титр вируса достигал $6,21 \pm 0,17 \lg \text{ГДЕ}_{50}/\text{см}^3$, а срок накопления сократился с 14 до 7–8 сут.

При оценке изменений характера гемадсорбции отмечалось уменьшение количества прикреплённых к зараженной клетке эритроцитов (с 40–50 до 30–40) у адаптированного вируса 15–20-го пассажа, а к 30-му пассажу этот показатель снизился до 20–30.

Биопроба. При исследовании инфекционной активности полученного штамма АЧС/ВНИИЗЖ/CV-1 вируса АЧС было проведено заражение 6 поросят вирусосодержащей суспензией внутримышечно в дозе 10 ГДЕ/гол., еще 2 подсвинка содержались совместно с инфицированными поросятами для контактного заражения. В результате внутримышечного и контактного методов заражения с выраженными клиническими признаками пали 3 из 8 подопытных поросят, т. е. общая летальность для штамма АЧС/ВНИИЗЖ/CV-1 составила 37,5%.

При проведении исследований выявили снижение вирулентности и способности штамма АЧС/ВНИИЗЖ/CV-1 индуцировать постинфекционные вирусспецифические антитела, выявляемые с помощью коммерческого диагностического набора ИФА в сыворотке крови до разведения 1:2000 в период до 14 сут после заражения.

Для образца адаптированного к культуре клеток CV-1 вируса 30-го пассажа также провели биопробу на поросятах с использованием дозы 10 ГДЕ/гол., при этом подопытных животных разделили на 3 группы: 2 поросенка – контактные животные (1-я группа), 2 поросенка – ослабленные бактериальной инфекцией животные (2-я группа) и 4 поросенка – здоровые животные (3-я группа). У всех животных ежедневно измеряли температуру тела. Результаты термографии представлены на рисунке.

Как видно из результатов, представленных на рисунке, температура у поросят контрольной группы не поднималась выше $40,5^\circ\text{C}$ за весь срок наблюдения (28 сут), что говорит об отсутствии контактной передачи им вируса.

У ослабленных бактериальной инфекцией животных отмечалась повышенная температура начиная с 5-х сут, на 11-е сут 1 поросенок погиб. При его вскрытии были

Таблица 1
Репродукция вируса АЧС (изолят Одинцово 02/14) при адаптации к росту в культуре клеток CV-1 ($n = 5$)

Номер пассажа	Титр вируса ($\lg \text{ГДЕ}_{50}/\text{см}^3$)	Время накопления (количество суток)
1	$5,12 \pm 0,25$	14
5	$4,65 \pm 0,32$	12
10	$5,46 \pm 0,21$	9–10
15	$6,09 \pm 0,24$	8–9
20	$6,21 \pm 0,17$	7–8
25	$7,08 \pm 0,19$	7
30	$7,31 \pm 0,12$	7

обнаружены поражения, характерные для АЧС, – гиперемиия и гипертрофия лимфатических узлов, спленомегалия, воспалительные поражения легких.

У животных 3-й группы отмечался кратковременный подъем температуры до $41–41,3^\circ\text{C}$ на 7–9-е сутки. Все животные этой группы оставались живы до окончания срока наблюдения (табл. 2).

Таким образом, в данном опыте летальность для животных 2-й и 3-й групп составила 16,7%, выраженное изменение биологических свойств адаптированного варианта вируса АЧС 30-го пассажа (снижение летальности с 85,7 до 16,7%) указывает на наличие вероятных изменений, произошедших в его геноме.

Контрольное заражение. При постановке биопробы с заражением свиней адаптированным вариантом 30-го пассажа вируса АЧС выжили 5 из 6 зараженных животных (группы 2–3) и 2 контактных (группа 1). Для изучения иммунного статуса и определения наличия устойчивости животных к вирусу АЧС провели контрольное заражение. Свиньям внутримышечно ввели вирус АЧС референтного изолята Arm 07 в дозе 1000 ГДЕ/гол. Выжившие контактные животные 1-й группы были использованы в качестве контроля.

Рис. Термография зараженных животных

1.1 и 1.2 (к) – животные 1-й группы;
2.1 и 2.2 (о) – животные 2-й группы;
3.1, 3.2, 3.3 и 3.4 – животные 3-й группы.

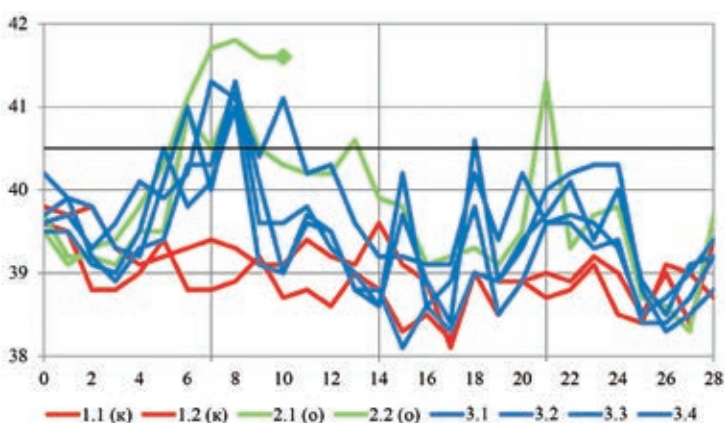


Таблица 2

Показатели температуры у подопытных животных на 5–14-е сутки после заражения вирусом АЧС 30-го пассажа, адаптированного к культуре клеток CV-1

Номер группы	Номер животного	Сутки после заражения							
		5	7	8	9	10	11	12	14
1	1.1 (к)	39,4	38,8	38,9	39,2	38,7	38,8	38,6	39,0
	1.2 (к)	39,2	39,4	39,3	39,1	39,1	39,4	39,2	39,1
2	2.1 (о)	40,5	40,5	41,2	40,5	40,3	40,2	40,2	40,6
	2.2 (о)	40,3	41,7	41,8	41,6	41,6	†	†	†
3	3.1	39,4	40,0	41,3	39,6	39,6	39,8	39,3	39,0
	3.2	39,9	40,1	41,0	39,1	39,0	39,7	39,5	38,8
	3.3	39,9	40,3	41,3	40,1	39,0	39,6	39,5	38,8
	3.4	39,5	40,3	41,1	40,4	40,1	40,2	40,3	39,6

† – гибель животного.

Температуру всех подопытных поросят измеряли ежедневно в течение всего срока наблюдения (30 сут со дня контрольного заражения).

На 6–7-е сутки контрольные поросята пали с признаками, характерными для АЧС. После контрольного заражения в указанный период у 4 из 5 поросят, выживших после первого заражения, наблюдали вялотекущий конъюнктивит, а температура тела оставалась в пределах физиологической нормы; у 5-го поросенка (из группы ослабленных животных) отмечалось опухание суставов и появление в этой области кровянистых выделений и кожно-некротических образований, характерных для хронического течения АЧС.

Поскольку все животные после контрольного заражения остались живы, а повторных подъемов температуры и появления других клинических признаков АЧС не отмечали, очевидно, что у них выработался протективный иммунный ответ.

Геномный анализ. На основании ПЦР-анализа участка гена B646L, кодирующего основной капсидный белок p72, адаптированный вариант вируса АЧС 30-го пассажа был отнесен к II генотипу. Следовательно, изменения, происходящие при адаптации вируса к росту в непермиссивной культуре клеток, не затронули область, определяющую его классификационные характеристики.

Для определения возможных причин снижения вирулентности адаптированного вируса и сравнительного анализа нуклеотидной последовательности провели полногеномное секвенирование вирусной ДНК, выделенной из клеток CV-1 в соответствии с руководством [1].

В ходе сравнительного анализа полногеномной последовательности адаптированного варианта вируса АЧС (штамм АЧС/ВНИИЗЖ/СV-1 30-го пассажа) и изолята Georgia 2007/1 установлено наличие точечных мутаций в 4 генах (M1249L, NP419L, E199L и I196L). Их функция, по данным L. K. Dixon и соавт., определена в следующем порядке: NP419L – ДНК-лигаза, участвует в репликации вируса; M1249L – участвует в репликации

вируса, точная функция не известна; E199L – структурный белок, являющийся трансмембранным доменом белка J-18L, и I196L – функция не известна [3].

Кроме того, как установлено ранее, для адаптированного штамма BA71V наблюдается появление крупной делеции, затрагивающей ген, кодирующий p22 и гены мультигенных семейств MGF100 и MGF360 в правой вариабельной концевой области генома [9]. Анализ геномной последовательности штамма АЧС/ВНИИЗЖ/СV-1 также выявил в области 180 975–183 920 крупную делецию, составляющую 2945 п. н., что привело к потере генов L7L, L8L, L9L, L10L, L11L и MGF360-18R.

По данным L. K. Dixon и соавт., L10L относится к семейству генов p22, функции L7L, L8L, L9L и L11L еще до сих пор не определены, а ген MGF360-18R относится к семейству MGF360, ответственных за вирулентность вируса АЧС [3].

Следовательно, можно предположить, что существует взаимосвязь между изменениями правой вариабельной концевой области генома, затрагивающей гены L7L, L8L, L9L, L10L, L11L и MGF360-18R, и биологическими свойствами вируса. Это подтверждается экспериментальными исследованиями на животных и коррелирует с результатами, полученными другими исследователями в Испании, Великобритании и США [2, 3, 7, 9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований получен и депонирован в коллекцию штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ» адаптированный к росту в перемываемой культуре клеток CV-1 штамм вируса АЧС (АЧС/ВНИИЗЖ/СV-1) 20-го пассажа. Штамм охарактеризован по основным биологическим свойствам, определена возможность его использования для дальнейшей адаптации, а также подана заявка на патент.

В процессе адаптации изолята Одинцово 02/14 вируса АЧС к репродукции в культуре клеток CV-1 удалось получить варианты вируса с измененными биологическими свойствами. Поскольку в ходе постановки био-

пробы с вариантом вируса 30-го пассажа контактные поросята оставались интактными и неиммунными, можно предположить, что данный вариант вируса утратил контагиозность, характерную для исходного изолята Одинцово 02/14 [6].

При заражении свиней адаптированным вариантом вируса 30-го пассажа летальность составила 16,7%, причем все выжившие животные приобрели устойчивость к повторному заражению вирулентным изолятом Arm 07.

Следует отметить, что пассирование вируса в непермиссивной культуре клеток до 30 последовательных пассажей не привело к изменению его генотиповой принадлежности, однако в правой вариабельной концевой области генома появилась крупная делеция размером около 3000 п. н., аналогичная таковой в геноме штамма BA71V, адаптированного к росту в перемиваемой культуре клеток Vero.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение: пер. с англ. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
2. African swine fever virus Georgia isolate harboring deletions of MGF360 and MGF505 genes is attenuated and confers protection against challenge with virulent parental virus / V. O'Donnell, L. G. Holinka, D. P. Gladue [et al.] // *J. Virol.* – 2015. – Vol. 89 (11). – P. 6048–6056; DOI: 10.1128/JVI.00554-15.
3. African swine fever virus replication and genomics / L. K. Dixon, D. A. Chapman, C. L. Netherton, C. Upton // *Virus Res.* – 2013. – Vol. 173 (1). – P. 3–14; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.020.
4. African swine fever // *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals* / OIE. – 7th ed. – Paris, 2012. – Vol. 2, Chap. 2.8.1. – P. 1067–1081.
5. African swine fever. Technical Disease Card / OIE. – URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/AFRICAN_SWINE_FEVER.pdf (дата обращения: 18.09.18).
6. Biological properties of African swine fever virus Odintsovo 02/14 isolate and its genome analysis / A. A. El'sukova, I. V. Shevchenko, A. A. Varentsova [et al.] // *Int. J. Environ. Agric. Res.* – 2017. – Vol. 3 (10). – P. 26–37.
7. Deletion of African swine fever virus interferon inhibitors from the genome of a virulent isolate reduces virulence in domestic pigs and induces a protective response / A. L. Reis, C. C. Abrams, L. C. Goatley [et al.] // *Vaccine.* – 2016. – Vol. 34 (39). – P. 4698–4705; DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.08.011.
8. Detection of African swine fever antibodies in experimental and field samples from the Russian Federation: Implications for control / L. Mur, A. Igolkin, A. Varentsova [et al.] // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2016. – Vol. 63 (5). – P. 436–440; DOI: 10.1111/tbed.12304.
9. Genome sequence of African swine fever virus BA71, the virulent parental strain of the nonpathogenic and tissue-culture adapted BA71V / J. M. Rodríguez, L. T. Moreno, A. Alejo [et al.] // *PLoS ONE.* – 2015. – Vol. 10 (11): e0142889; DOI: 10.1371/journal.pone.0142889.
10. Genomic analysis of highly virulent Georgia 2007/1 isolate of African swine fever virus / D. A. Chapman, A. C. Darby, M. Da Silva [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2011. – Vol. 17 (4). – P. 599–605; DOI: 10.3201/eid1704.101283.
11. Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterization / A. D. Bastos, M. L. Penrith, C. Crucièr [et al.] // *Arch. Virol.* – 2003. – Vol. 148 (4). – P. 693–706; DOI: 10.1007/s00705-002-0946-8.
12. Related strains of African swine fever virus with different virulence: genome comparison and analysis / R. Portugal, J. Coelho, D. Höper [et al.] // *J. Gen. Virol.* – 2015. – Vol. 96 (Pt 2). – P. 408–419; DOI: 10.1099/vir.0.070508-0.

REFERENCES

1. Glick B. R., Pasternak J. J. *Molecular Biology. Principles and Application: translated from English.* – M.: Mir, 2002 (in Russian).
2. African swine fever virus Georgia isolate harboring deletions of MGF360 and MGF505 genes is attenuated and confers protection against challenge with virulent parental virus. V. O'Donnell, L. G. Holinka, D. P. Gladue [et al.]. *J. Virol.* 2015; 89 (11): 6048–6056; DOI: 10.1128/JVI.00554-15.
3. African swine fever virus replication and genomics. L. K. Dixon, D. A. Chapman, C. L. Netherton, C. Upton. *Virus Res.* 2013; 173 (1): 3–14; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.020.
4. African swine fever. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals.* OIE. 7th ed. Paris, 2012; 2, Chap. 2.8.1: 1067–1081.
5. African swine fever. Technical Disease Card. OIE. URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/AFRICAN_SWINE_FEVER.pdf (access date: 18.09.18).
6. Biological properties of African swine fever virus Odintsovo 02/14 isolate and its genome analysis. A. A. El'sukova, I. V. Shevchenko, A. A. Varentsova [et al.]. *Int. J. Environ. Agric. Res.* 2017; 3 (10): 26–37.
7. Deletion of African swine fever virus interferon inhibitors from the genome of a virulent isolate reduces virulence in domestic pigs and induces a protective response. A. L. Reis, C. C. Abrams, L. C. Goatley [et al.]. *Vaccine.* 2016; 34 (39): 4698–4705; DOI: 10.1016/j.vaccine.2016.08.011.
8. Detection of African swine fever antibodies in experimental and field samples from the Russian Federation: Implications for control. L. Mur, A. Igolkin, A. Varentsova [et al.]. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (5): 436–440; DOI: 10.1111/tbed.12304.
9. Genome sequence of African swine fever virus BA71, the virulent parental strain of the nonpathogenic and tissue-culture adapted BA71V. J. M. Rodríguez, L. T. Moreno, A. Alejo [et al.]. *PLoS ONE.* 2015; 10 (11): e0142889; DOI: 10.1371/journal.pone.0142889.
10. Genomic analysis of highly virulent Georgia 2007/1 isolate of African swine fever virus. D. A. Chapman, A. C. Darby, M. Da Silva [et al.]. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17 (4): 599–605; DOI: 10.3201/eid1704.101283.
11. Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterization. A. D. Bastos, M. L. Penrith, C. Crucièr [et al.]. *Arch. Virol.* 2003; 148 (4): 693–706; DOI: 10.1007/s00705-002-0946-8.
12. Related strains of African swine fever virus with different virulence: genome comparison and analysis. R. Portugal, J. Coelho, D. Höper [et al.]. *J. Gen. Virol.* 2015; 96 (Pt 2): 408–419; DOI: 10.1099/vir.0.070508-0.

Поступила 30.11.18

Принята в печать 06.12.18



СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ В РОССИИ ЗА 2017 Г.

М. А. Волкова¹, Ир. А. Чвала², П. С. Ярославцева³, В. Ю. Сосипаторова⁴, И. А. Чвала⁵

¹ Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: volkovama@arriah.ru

² Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: chvala_ia@arriah.ru

³ Младший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, e-mail: yaroslavtseva@arriah.ru

⁴ Биолог, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: sosipatorova@arriah.ru

⁵ Заместитель директора, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: chvala@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Ньюкасская болезнь — высококонтагиозное вирусное заболевание птиц, включенное в нотифицированный список МЭБ, наносящее огромный экономический ущерб и представляющее собой большую угрозу птицеводческим хозяйствам мира. В работе представлены результаты мониторинговых исследований по ньюкасской болезни среди домашних и диких птиц в Российской Федерации за 2017 г. Исследования выполнены с использованием диагностических наборов для выявления антител к вирусу ньюкасской болезни иммуноферментным методом и в реакции торможения гемагглютинации на базе референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир). Биологический материал, доставленный из территориальных управлений Россельхознадзора, отобран от 31 678 домашних и 433 диких и синантропных птиц из 22 и 4 регионов РФ соответственно. Показана различная степень серопревалентности у домашних птиц из промышленных птицеводческих предприятий закрытого типа, индивидуального сектора и диких птиц различных регионов Российской Федерации. Почти абсолютная серопревалентность по ньюкасской болезни

установлена в промышленных хозяйствах закрытого типа у взрослой птицы, что связано с поголовной вакцинацией против данного заболевания. У цыплят-бройлеров отмечали относительно невысокую среднюю серопревалентность к вирусу ньюкасской болезни вследствие недостаточно высокого уровня поствакцинальных антител к моменту отбора проб крови (главным образом в момент убоя). В среднем в одной третьей части проб от кур из личных подсобных хозяйств обнаружены антитела к вирусу ньюкасской болезни, при этом высокую серопревалентность по ньюкасской болезни отмечали в хозяйствах республик Северного Кавказа и южных регионов РФ. Серопревалентность у диких птиц была умеренной. Таким образом, данные мониторинговых исследований свидетельствуют о нестабильности эпизоотической обстановки по ньюкасской болезни в РФ и сохранении риска возникновения болезни в промышленных и индивидуальных хозяйствах.

Ключевые слова: ньюкасская болезнь, эпизоотология, домашняя птица, дикая птица.

UDC 619:578.831.1:578:72:616-079.4

SEROLOGICAL MONITORING OF NEWCASTLE DISEASE IN RUSSIA 2017

M. A. Volkova¹, Ir. A. Chvala², P. S. Yaroslavtseva³, V. Yu. Sosipatorova⁴, I. A. Chvala⁵

¹ Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: volkovama@arriah.ru

² Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: chvala_ia@arriah.ru

³ Junior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, e-mail: yaroslavtseva@arriah.ru

⁴ Biologist, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: sosipatorova@arriah.ru

⁵ Deputy Director, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: chvala@arriah.ru

SUMMARY

Newcastle disease is an OIE-listed and highly contagious viral avian disease inflicting great economic losses and constituting a serious threat to poultry farms all over the world. The paper provides monitoring research results for Newcastle disease among poultry and wild birds in the Russian Federation for 2017. The tests were carried out with diagnostic kits for Newcastle disease virus antibody detection by immunosorbent assay and HI at the FGBI "ARRIAH" Reference Laboratory for Viral Avian Diseases (Vladimir). Biological material delivered from Rosselkhoznadzor Territorial Administrations was collected from 31 678 domestic and 433 wild and synanthropic birds from 22 and 4 regions of the Russian Federation, respectively. The paper shows different levels of seroprevalence in poultry from industrial poultry establishments of a closed type and backyards and in wild birds of various regions of the Russian Federation. Almost total Newcastle

disease seroprevalence was found in adult poultry from industrial closed establishments due to a total vaccination against the disease. Broilers demonstrated a relatively low average Newcastle disease virus seroprevalence because of an insufficient antibody level by the moment of blood sampling (mostly during slaughter). On average, antibodies to Newcastle disease virus were detected in one third of samples from backyard poultry. With that, high seroprevalence was registered on farms of North Caucasian Republics and southern regions of the Russian Federation. Seroprevalence in wild birds was moderate. Thus, the monitoring research indicates an unstable epidemiological situation for Newcastle disease in the Russian Federation and the remaining risk of disease outbreak on industrial and backyard farms.

Key words: Newcastle disease, epidemiology, poultry, wild birds.

ВВЕДЕНИЕ

Ньюкасская болезнь (НБ) – высококонтагиозное вирусное заболевание птиц, характеризующееся поражением органов дыхания, пищеварительного тракта и центральной нервной системы. Возбудителем НБ является РНК-содержащий парамиксовирус серотипа 1 (APMV-1), принадлежащий к семейству *Paramyxoviridae* рода *Avulavirus* [4, 6]. В естественных условиях НБ чаще регистрируют у птиц из отряда куриных (куры, индейки, фазаны, павлины). Описаны случаи заражения синантропных птиц (голуби, воробьи, сороки, попугаи, ястребы). Тяжесть заболевания зависит от степени вирулентности вируса, возраста, иммунного статуса и восприимчивости хозяина. Многие виды диких и синантропных птиц являются природными резервуарами и переносчиками возбудителя НБ. При этом наибольшее значение имеют представители перелетных видов, распространяющие инфекцию за счет сезонных миграций. Резервуаром возбудителя могут быть также домашние утки и гуси [1, 4, 6].

НБ регистрируют во всем мире, она включена в список notiфицируемых болезней МЭБ, так как наносит колоссальный экономический ущерб и препятствует международной торговле [5, 8]. Распространение болезни обусловлено торгово-хозяйственными связями между странами, а также сезонными миграциями диких и синантропных птиц. Заболевание имело место на 6 из 7 континентов и зарегистрировано во многих странах [4, 6, 7]. Случаи НБ у голубей ежегодно регистрируются в различных регионах Российской Федерации с различной интенсивностью [1, 7].

В ряде стран мира запрещена вакцинация против НБ и стратегия искоренения заболевания у домашней птицы основана на уничтожении инфицированного поголовья и проведении карантинных мероприятий. Стратегия профилактики НБ в РФ основана на обязательной профилактической иммунизации птиц промышленных птицеводческих предприятий закрытого типа с применением живых и инактивированных вакцин [1, 3, 9]. Вакцинация и ветеринарно-санитарные мероприятия способны достаточно эффективно предупреждать заболевание. Однако НБ продолжает представлять потенциальную угрозу для птицеводства Российской Федерации, так как в небольших частных хозяйствах часто не проводят вакцинацию, что повышает опасность возникновения эпизоотий. На территории России в 2016–2017 гг. вспышки НБ среди кур зарегистрированы в Республике Крым [2].

Необходимость осуществления мониторинговых исследований НБ определяется опасностью заноса новых вариантов вируса на территорию страны, угрозой внедрения патогена в промышленные птицеводческие предприятия, возникновением эпизоотий, причиняющих огромный экономический ущерб [1, 7, 8].

Целью данной работы являлось проведение серологических исследований по НБ на территории России в 2017 г. в рамках выполнения государственного задания по эпизоотологическому мониторингу и диагностике и профилактике особо опасных болезней животных с последующим анализом полученных данных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биологический материал (сыворотки крови птиц) для исследования предоставлен территориальными управлениями Россельхознадзора.

Исследования проводили с использованием произведенных в ФГБУ «ВНИИЗЖ» наборов: наборов для определения антител к вирусу ньюкассской болезни иммуноферментным методом (ИФА) при тестировании сывороток в одном разведении и наборов для выявления антител к вирусу ньюкассской болезни в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Наборы ИФА использовали для тестирования сывороток крови кур, наборы РТГА – для исследования сывороток крови домашних птиц (кур, индеек, уток, гусей, перепелов), диких и синантропных птиц.

Поступившие для исследования сыворотки крови инактивировали прогреванием при температуре 56 °C в течение 30 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках государственного задания в 2017 г. на наличие антител к вирусу НБ в РТГА и ИФА исследовано 31 678 проб сывороток крови домашних птиц из 22 регионов РФ.

21 760 проб сывороток крови кур доставлено из 73 промышленных птицеводческих предприятий (птицефабрик) 17 регионов РФ (табл. 1).

При исследовании сывороток крови взрослой птицы не менее 80% проб было серопозитивным. От 80 до 90% положительных проб выявили в Волгоградской и Амурской областях, Красноярском и Краснодарском краях, в остальных 13 регионах количество положительных результатов составило от 93 до 100%.

Процент серопозитивной птицы среди молодняка промышленного и родительского стада (7 регионов) варьировал значительно (от 0 до 93%).

При исследовании сывороток крови от цыплят-бройлеров из 10 различных регионов наименьшее количество положительных проб выявлено в хозяйствах Калининградской области (4%), а наибольшее – в Ставропольском и Краснодарском крае (69 и 61% соответственно).

Анализ общего количества серопозитивных проб (по всем регионам) по разным категориям птицы показал увеличение количества позитивных проб от 41% у цыплят-бройлеров до 72% у молодняка и 93% у взрослой птицы. Выявленные антитела в сыворотках крови птиц промышленных предприятий, по имеющейся информации, индуцированы вакцинными штаммами вируса НБ в составе живых или инактивированных вакцин. На некоторых птицефабриках отмечен неудовлетворительный уровень поствакцинального иммунитета.

На представленном рисунке показаны данные по выявлению положительных результатов по НБ среди кур промышленных птицеводческих предприятий 7 федеральных округов РФ.

Исходя из полученных данных (см. рисунок), во всех округах 88–97% взрослой птицы являлось серопозитивной. Относительно низкое число положительных результатов при исследовании сывороток крови молодняка промышленного и родительского стада и цыплят-бройлеров свидетельствует о низком уровне поствакцинального иммунитета и, как следствие, недостаточной их защищенности от НБ.

При исследовании 9116 сывороток крови кур из личных подсобных (ЛПХ) и коллективных фермерских (КФХ) хозяйств 12 регионов РФ положительный результат показал в среднем 31% проб (табл. 2), в южных регионах процент выявления положительных проб был выше.

Таблица 1

Результаты исследований сывороток крови кур из промышленных птицеводческих предприятий РФ в РТГА и ИФА на наличие антител к вирусу ньюкаслской болезни

Субъект РФ	Цыплята-бройлеры		Промышленное и родительское стадо			
			молодняк (до 100 сут)		взрослые (больше 100 сут)	
	Количество исследованных проб	Положительный результат (%)	Количество исследованных проб	Положительный результат (%)	Количество исследованных проб	Положительный результат (%)
Владимирская область (5 п/ф)*	340	134 (39%)	130	118 (91%)	990	990 (100%)
Ивановская область (3 п/ф)	1225	201 (16%)	120	112 (93%)	807	785 (97%)
Костромская область (5 п/ф)	310	41 (13%)	н/и	н/и	1659	1588 (96%)
Нижегородская область и Республика Марий Эл (8 п/ф)	681	359 (53%)	н/и	н/и	2359	2289 (97%)
Саратовская область (6 п/ф)	н/и	н/и	136	120 (88%)	498	483 (97%)
Калининградская область (2 п/ф)	400	15 (4%)	н/и	н/и	200	185 (93%)
Красноярский край (7 п/ф)	760	395 (52%)	125	51 (41%)	675	583 (86%)
Республика Алтай (4 п/ф)	510	239 (47%)	н/и	н/и	980	912 (93%)
Хабаровский край (2 п/ф)	н/и	н/и	н/и	н/и	280	270 (96%)
Приморский край (6 п/ф)	н/и	н/и	25	0 (0%)	1000	973 (97%)
Амурская область (4 п/ф)	776	348 (45%)	н/и	н/и	150	124 (83%)
Ставропольский край (6 п/ф)	760	528 (69%)	170	115 (68%)	895	831 (93%)
Астраханская область (2 п/ф)	н/и	н/и	65	37 (57%)	796	740 (93%)
Краснодарский край (9 п/ф)	572	346 (61%)	н/и	н/и	2711	2382 (88%)
Ростовская область (2 п/ф)	н/и	н/и	н/и	н/и	152	152 (100%)
Волгоградская область (2 п/ф)	н/и	н/и	н/и	н/и	503	397 (79%)
Итого	6334	2606 (41%)	771	553 (72%)	14 655	13 684 (93%)

* количество птицефабрик, из которых доставляли пробы;
н/и – не исследовали.

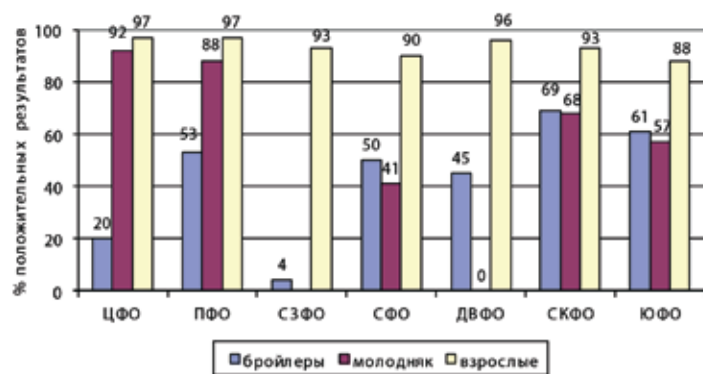


Рис. Положительные по НБ результаты исследования сывороток крови кур из различных промышленных предприятий 7 федеральных округов Российской Федерации

ЦФО – Центральный федеральный округ; ПФО – Приволжский федеральный округ; СЗФО – Северо-Западный федеральный округ; СФО – Сибирский федеральный округ; ДВФО – Дальневосточный федеральный округ; СКФО – Северо-Кавказский федеральный округ; ЮФО – Южный федеральный округ.

Анализ выявления серопозитивных сывороток крови по различным федеральным округам РФ показал наиболее высокий процент положительных проб у кур в Северо-Кавказском (55% в Республике Ингушетия) и Южном (62% в Краснодарском крае) федеральных

округах. По данным сопроводительных документов, куры для ЛПХ в основном приобретались на птицефабриках, где были привиты против НБ, но в дальнейшем не вакцинировались. В КФХ в основном проводилась повторная вакцинация против НБ.

При исследовании сывороток крови от других видов домашних птиц специфические антитела выявлены в крови уток, индеек и перепелов (табл. 3). У гусей антитела к вирусу НБ не выявлены. Из 97 исследованных проб сывороток крови индеек получен только один положительный результат. В 71 пробе (14%) сывороток крови уток из 525 исследованных выявлены антитела к вирусу НБ. При этом самое большое количество положительных проб (77%) выявлено в Краснодарском крае. Данные по вакцинации уток отсутствовали.

433 пробы сыворотки крови от диких и синантропных птиц из 4 регионов РФ исследованы на наличие антител к вирусу НБ с помощью РТГА (табл. 4).

Постинфекционные антитела к вирусу НБ выявлены в сыворотках крови синантропных птиц из Красноярского края и Нижегородской области: в 4 пробах от сизого голубя (отряд голубеобразные, семейство голубиные) и 5 пробах от грача (отряд воробьинообразные, семейство врановые). Антитела к вирусу НБ обнаружены в 11 пробах, полученных от диких уток и гусей (отряд гусеобразные, семейство утиные) из Забайкальского края и Нижегородской области, и 1 пробе – от желтой трясогузки (отряд воробьинообразные, семейство трясогузковые) из Красноярского края. Во время отбора проб признаков болезни или массового

Таблица 2

Результаты исследований сывороток крови кур из ЛПХ и КФХ РФ в РТГА и ИФА на наличие антител к вирусу ньюкаслской болезни

Федеральный округ	Субъект РФ	Количество исследованных проб	Количество положительных проб	% положительных результатов
Центральный	Владимирская область	113	32	28
Северо-Западный	Калининградская область	758	49	6
Сибирский	Забайкальский край	738	63	9
Дальневосточный	Хабаровский край	620	154	25
Северо-Кавказский	Республика Ингушетия	220	121	55
	Республика Дагестан	291	140	48
	Чеченская Республика	1412	682	48
Южный	Астраханская область	1478	654	44
	Волгоградская область	1000	139	14
	Краснодарский край	240	149	62
	Ростовская область	1996	533	27
	Республика Крым	250	111	44
Итого		9116	2827	31

падежа диких птиц не отмечали, поэтому, вероятнее всего, образование антител вызвано низковирулентными вирусами НБ, которые периодически выявляются в популяциях диких птиц.

Выявление антител к вирусу НБ в сыворотках крови от диких и синантропных птиц свидетельствует о сохраняющейся угрозе распространения инфекции на поголовье домашних птиц при отсутствии у последних надлежащего поствакцинального иммунитета.

Серологические исследования по НБ в рамках государственного эпизоотологического мониторинга являются составляющей частью системы контроля, предупреждения и прогнозирования возникновения заболевания. По результатам серологического мониторинга в 2017 г. установлена почти абсолютная серопре-

валентность НБ в промышленных хозяйствах закрытого типа для взрослой птицы, что связано с поголовной вакцинацией против данного заболевания. Относительно невысокую среднюю серопревалентность НБ у цыплят-бройлеров можно объяснить применением в хозяйствах различных схем вакцинации, которые не всегда обеспечивали достаточно высокий уровень поствакцинальных антител к моменту отбора проб крови (как правило, сыворотки отбирали при убое). Выявление высоких титров антител у домашних птиц в ЛПХ может свидетельствовать о циркуляции ленто- и мезогенных штаммов возбудителя НБ среди птиц частных подворий. Примечателен факт высокой серопревалентности НБ при исследовании сывороток крови от птиц из ЛПХ республик Северного Кавказа и южных регионов РФ. Та-

Таблица 3

Результаты исследований сывороток крови домашних птиц из ЛПХ и КФХ РФ в РТГА на наличие антител к вирусу ньюкаслской болезни

Федеральный округ	Субъект РФ	Вид птицы	Количество исследованных проб	Количество положительных проб	% положительных проб
Центральный	Владимирская область	утки	23	2	9
		гуси	22	0	0
Северо-Западный	Калининградская область	индейки	30	0	0
		гуси	4	0	0
		перепела	32	3	9
Сибирский	Забайкальский край	индейки	7	0	0
		гуси	5	0	0
Дальневосточный	Хабаровский край	перепела	100	0	0
Южный	Астраханская область	индейки	20	0	0
		утки	140	6	4
		гуси	17	0	0
	Краснодарский край	утки	60	46	77
	Ростовская область	индейки	40	1	3
		утки	302	17	6

Таблица 4

Результаты исследования в РТГА проб сыворотки крови диких и синантропных птиц на наличие антител к вирусу ньюкаслской болезни

Субъект РФ	Вид птицы	Количество исследованных проб	Положительный результат
Забайкальский край	дикая утка	3	3
Красноярский край	синантропная птица (сизый голубь)	130	3
	птица водного комплекса (кряква, свиязь, чирок-свиистунок)	20	0
	дикие птицы лугов, полей, болот (бекас, северная бормотушка, лесной дупель, черноголовый чекан, желтая трясогузка, полевой воробей)	90	1
	дикие птицы лесов (лесной конек, гаичка, вальдшнеп, вертишейка, поползень, дрозд-ряба, буроголовая гаичка)	60	0
Нижегородская область	синантропная птица (сизый голубь, грач, ворона, галка)	40	6
	птица водного комплекса (дикие утки и гуси)	53	8
	птицы полей и лесов (тетерев, вальдшнеп)	6	0
Республика Тыва	птица водного и околородного комплекса (чомга, серая утка, красноклювый нырок, баклан, крачка, серебристая чайка, озерная чайка)	31	0
Итого		433	21

ким образом, подтверждается предположение о реальной угрозе возникновения первичных очагов болезни именно у птиц ЛПХ. Серопревалентность НБ у диких птиц, которые, вероятнее всего, являются естественным резервуаром вирусов ньюкаслской болезни различной степени патогенности, была умеренной.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что эпизоотическая обстановка по ньюкаслской болезни в Российской Федерации является нестабильной и сохраняется риск возникновения болезни в промышленных и индивидуальных хозяйствах, особенно в случае неэффективной вакцинации поголовья и при отсутствии плановой вакцинации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Михайлова В. В., Калмыков М. В., Белоусова Р. В. Эпизоотический мониторинг ньюкаслской болезни птиц за период 1999–2003 // Вопросы физико-химической биологии в ветеринарии: сб. научных трудов. – М., 2005. – С. 94–97.
2. Об обнаружении вируса ньюкаслской болезни в Республике Крым и результатах исследований референтной лаборатории вирусных болезней птиц. – URL: <http://www.arriah.ru/main/news/ob-obnaruzhenii-virusa-nyukaslskoi-bolezni-v-respublike-krym-i-rezultatakh-issledovani-re> (дата обращения: 02.11.17).
3. Протективные свойства вакцины из штамма «Ла-Сота» при заражении цыплят вирулентным штаммом VII генотипа вируса ньюкаслской болезни / А. Б. Сарбасов, В. Н. Ирза, П. И. Репин [и др.] // Ветеринария. – 2015. – № 2. – С. 28–31.
4. Alexander D. J. Newcastle disease and other avian *Paramyxoviridae* infections // *Diseases of Poultry* / ed. B. W. Calnek [et al.]. – 10th ed. – Ames: Iowa, 1997. – P. 541–570.
5. Alexander D. J., Senne D. A. Newcastle Disease and Other Avian *Paramyxoviruses* // *A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens* / ed. L. Dufour-Zavala, D. E. Swayne, J. R. Glisson [et al.]. – 5th ed. – Athens: American Association of Avian Pathologists, 2008. – P. 135–141.
6. Alexander D. J., Aldous E. W., Fuller C. M. The long view: A selective review of 40 years of Newcastle disease research // *Avian Pathol.* – 2012. – Vol. 41 (4). – P. 329–335; DOI: 10.1080/03079457.2012.697991.
7. Characteristics of pigeon paramyxovirus serotype-1 isolates (PPMV-1) from the Russian Federation from 2001 to 2009 / I. P. Pchelkina,

T. B. Manin, S. N. Kolosov [et al.] // *Avian. Dis.* – 2013. – Vol. 57 (1). – P. 2–7; DOI: 10.1637/10246-051112-Reg.1.

8. Infection with Newcastle disease virus // *Terrestrial Animal Health Code / OIE.* – 23rd ed. – Paris, France, 2014. – Vol. 2, Chapter 10.9.

9. Kapczynski D. R., Afonso C. L., Miller P. J. Immune responses of poultry to Newcastle disease virus // *Dev. Comp. Immunol.* – 2013. – Vol. 41 (3). – P. 447–453; DOI: 10.1016/j.dci.2013.04.012.

REFERENCES

1. Mikhailova V. V., Kalmykov M. V., Belousova R. V. Avian Newcastle disease epidemiological monitoring for 1999–2003 [Epizooticheskiy monitoring n'yukaslskoy bolezni ptic za period 1999–2003]. *Voprosy fiziko-khimicheskoy biologii v veterinarii: proceedings.* M., 2005; 94–97 (in Russian).
2. Detection of Newcastle disease in the Republic of Crimea and test results obtained by the reference laboratory for viral avian diseases [Ob obnaruzhenii virusa n'yukaslskoy bolezni v Respublike Krym i rezul'tatah issledovaniy referentnoy laboratorii virusnyh boleznej ptic]. URL: <http://www.arriah.ru/main/news/ob-obnaruzhenii-virusa-nyukaslskoi-bolezni-v-respublike-krym-i-rezultatakh-issledovani-re> (date of access: 02.11.17) (in Russian).
3. Protective properties of La-Sota strain vaccine: infection of chickens with a virulent strain of Newcastle disease genotype VII [Protektivnyye svoystva vaktsiny iz shtamma «La-Sota» pri zarazhenii cyplyat virulentnym shtammom VII genotipa virusa n'yukaslskoy bolezni]. A. B. Sarbasov, V. N. Irza, P. I. Repin [et al.]. *Veterinariya.* 2015; 2: 28–31 (in Russian).
4. Alexander D. J. Newcastle disease and other avian *Paramyxoviridae* infections. *Diseases of Poultry.* ed. B. W. Calnek [et al.]. 10th ed. Ames: Iowa, 1997; 541–570.
5. Alexander D. J., Senne D. A. Newcastle Disease and Other Avian *Paramyxoviruses.* *A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens.* ed. L. Dufour-Zavala, D. E. Swayne, J. R. Glisson [et al.]. 5th ed. Athens: American Association of Avian Pathologists, 2008; 135–141.
6. Alexander D. J., Aldous E. W., Fuller C. M. The long view: A selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian Pathol.* 2012; 41 (4): 329–335; DOI: 10.1080/03079457.2012.697991.
7. Characteristics of pigeon paramyxovirus serotype-1 isolates (PPMV-1) from the Russian Federation from 2001 to 2009. I. P. Pchelkina, T. B. Manin, S. N. Kolosov [et al.]. *Avian. Dis.* 2013; 57 (1): 2–7; DOI: 10.1637/10246-051112-Reg.1.
8. Infection with Newcastle disease virus. *Terrestrial Animal Health Code OIE.* 23rd ed. Paris, France, 2014; 2, Chapter 10.9.
9. Kapczynski D. R., Afonso C. L., Miller P. J. Immune responses of poultry to Newcastle disease virus. *Dev. Comp. Immunol.* 2013; 41 (3): 447–453; DOI: 10.1016/j.dci.2013.04.012.

Поступила 05.06.18

Принята в печать 29.11.18

ГЕМАГГЛЮТИНИРУЮЩИЕ И АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА ИЗОЛЯТОВ *AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ И РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

А. В. Потехин¹, В. А. Евграфова², Д. Б. Андрейчук³

¹Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: potehin@arriah.ru

²Ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: evgrafova@arriah.ru

³Заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: andreychuk@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты изучения антигенных свойств референтного штамма *Avibacterium paragallinarum* и 10 изолятов, выделенных на территории Российской Федерации и Республики Беларусь. У референтного штамма и 9 изолятов обнаружен гемагглютинин типа L – термолabile, трипсинчувствительного, активного в отношении свежих и обработанных глутаровым альдегидом эритроцитов. 1 изолят характеризовался наличием гемагглютинина типа HL – термолabile, трипсинрезистентного, активного только в отношении эритроцитов, обработанных глутаровым альдегидом. Антиген референтного штамма оказался инагглютинабельным в гомологичной антисыворотке, а также неспособным агглютинировать эритроциты из-за наличия гиалуроновой кислоты в составе капсульной субстанции. Серологическая и гемагглютинирующая инертность исчезла после обработки клеток гиалуронидазой. В реакции агглютинации выявлено, что 7 из 10 исследуемых изолятов принадлежали к одной серологической группе,

при этом коэффициент двустороннего антигенного родства составил $\geq 78,4\%$. В реакции торможения гемагглютинации степень антигенного родства между исследуемыми изолятами составила $\geq 92,6\%$, что указывает на их принадлежность не только к 1 серогруппе, но и к 1 серотипу. Между группой исследуемых изолятов и референтным штаммом серогруппы А серологического соответствия в реакции агглютинации ($\leq 23,6\%$) и в реакции торможения гемагглютинации ($\leq 12,2\%$) не выявлено. Методом полимеразной цепной реакции установлено, что все изоляты, выделенные в Российской Федерации и Республике Беларусь в период с 2014 по 2016 г., принадлежат к серогруппе В.

Ключевые слова: инфекционный ринит (гемофилез) кур, изоляты, агглютинины, гемагглютинины, антигенное родство, *Avibacterium paragallinarum*.

UDC 619:616.98:579.843.94(470)(476)

HEMAGGLUTINATION AND ANTIGENIC PROPERTIES OF *AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM* ISOLATES RECOVERED IN THE RUSSIAN FEDERATION AND REPUBLIC OF BELARUS

A. V. Potehin¹, V. A. Yevgrafova², D. B. Andreychuk³

¹ Head of Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: potehin@arriah.ru

² Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: evgrafova@arriah.ru

³ Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: andreychuk@arriah.ru

SUMMARY

The paper demonstrates examination results of antigenic properties of *Avibacterium paragallinarum* reference strain and ten isolates thereof recovered in the Russian Federation and Republic of Belarus. Nine isolates and the reference strain demonstrated type L hemagglutinin (thermolabile, trypsin-sensitive, active against fresh and glutaraldehyde-treated RBC). One isolate was marked by type HL hemagglutinin (thermolabile, trypsin-resistant, active only against glutaraldehyde-treated RBC). The reference strain antigen proved to be inagglutinable by homologous antiserum, and unable to agglutinate RBCs due to hyaluronic acid in the capsular substance. Serological and hemagglutination non-reactivity was removed through the cell treatment with hyaluronidase. The agglutination test demonstrated that seven out of ten tested isolates belonged to the same

serological group; herewith, the proportion of the bilateral antigenic relatedness amounted to $\geq 78.4\%$. HI results demonstrated $\geq 92.6\%$ antigenic relatedness of the tested isolates being indicative of the fact that they belonged not only to the same serological group but also to the same serotype. No serological relatedness was identified between the tested isolates and reference strain of serogroup A both using agglutination test ($\leq 23.6\%$) and HI ($\leq 12.2\%$). Polymerase chain reaction demonstrated that all the isolates recovered in the Russian Federation and Republic of Belarus in 2014-2016 belonged to serogroup B.

Key words: chicken infectious coryza (Haemophilus infection), isolates, agglutinins, hemagglutinins, antigenic relatedness, *Avibacterium paragallinarum*.

ВВЕДЕНИЕ

В современном птицеводстве при интенсивных методах выращивания, высокой плотности посадки, быстрой смене технологических процессов, частой вакцинации куры подвергаются воздействию различных неблагоприятных факторов. Появляется высокая нагрузка на иммунный статус птицы. На фоне этого повышается вероятность появления многих заболеваний, одним из которых является инфекционный ринит кур.

Инфекционный ринит (гемофилез) – это острое инфекционное заболевание кур, вызываемое бактериями *Avibacterium paragallinarum*, ранее известными как *Haemophilus paragallinarum* [4, 15]. Заболевание характеризуется катаральным воспалением слизистых оболочек носовой полости, конъюнктивы и воздухоносных пазух, а также подкожным отеком головы и в редких случаях – пневмонией. Инфекционный ринит зарегистрирован во всех странах мира и наносит ощутимый экономический ущерб птицеводству. Экономический ущерб от заболевания складывается в основном из потери яйценоскости кур до 40% в течение 2–3 нед, особенно на пике яйценоскости, снижения прироста бройлеров, задержки роста цыплят. Может наблюдаться падеж молодняка до 10%. Обычно смертность при инфекционном рините незначительная, гибель птицы в основном происходит при ассоциированном течении болезни с инфекционным бронхитом, ларинготрахеитом или респираторным микоплазмозом [10, 12].

Антигенная структура *A. paragallinarum* сложна и разнообразна. К. Хинц впервые детально изучил антигенные свойства возбудителя по гемагглютинирующей активности. Способность агглютинировать эритроциты кур была установлена у инкапсулированных клеток серотипа А. Позднее, используя специальные методы обработки бактерий, обнаружили гемагглютинирующие свойства и у культур серотипа С. Гемагглютинины, по данным электронной микроскопии, локализируются на мембране клеточной стенки, они гетерогенны по серологическим и физико-химическим свойствам. Различают следующие типы гемагглютининов: HS – термостабильный, трипсинрезистентный; HL – термолабильный, трипсинрезистентный; L – термолабильный, трипсинчувствительный, устойчивый к действию гиалуронидазы, активный в отношении свежих и обработанных глутаровым альдегидом куриных эритроцитов. Гемагглютинины типов HS и HL активны в отношении только свежих куриных эритроцитов, но не обработанных глутаровым альдегидом. Антигенная структура возбудителя тесно связана с типом образуемых на агаре колоний: бактерии из флюоресцирующих колоний содержат типоспецифический антиген типа L, гемагглютинин и обладают протективными свойствами, а нефлюоресцирующие колонии состоят из клеток, не имеющих перечисленных свойств.

В настоящее время для типирования возбудителя инфекционного ринита кур используют серологические и молекулярно-генетические методы.

Первая схема типирования *A. paragallinarum* была разработана Л. Пейджем с использованием реакции агглютинации на стекле. В данной схеме различали 3 серотипа – А, В и С. Долгое время существовало предположение, что серотип В не является отдельным серотипом, а представляет собой промежуточное звено между серотипами А и С, которые потеряли типоспецифический антиген [5, 19]. Последующие

исследования окончательно показали, что серотип В является самостоятельным и не имеет ничего общего с серотипами А и С [13]. По результатам исследования большого количества изолятов инфекционного ринита кур было установлено, что в Германии циркулируют преимущественно серотипы А и В, в Испании – А, В и С, в Австралии, Южной Африке и Индонезии – А и С, а в Малайзии – А. Недостатком данной схемы является то, что около трети всех изолятов не типифицируются, возможно, из-за отсутствия агглютиногена.

Вторая схема типирования, разработанная К. Кумэ на основе реакции торможения гемагглютинации, предусматривала наличие 7 серотипов (HA-1-HA-7), распределенных по 3 серогруппам (I, II, III) [10]. Преимуществом данной схемы является то, что большинство изолятов, не типифицируемых в реакции агглютинации, были типированы в реакции торможения гемагглютинации. Однако данная схема не нашла широкого практического применения в связи техническими сложностями постановки теста.

Для удобства классификации *A. paragallinarum* по антигенным свойствам П. Блэкл совместил результаты исследований Л. Пейджа и К. Кумэ и предложил новую схему, включающую 3 серогруппы по агглютинирующей и 9 серотипов по гемагглютинирующей. В настоящее время по модифицированной схеме к серогруппе А относятся 4 серотипа (A-1, A-2, A-3 и A-4), к серогруппе В – 1 серотип (B-1), к серогруппе С – 4 серотипа (C-1, C-2, C-3 и C-4) [6]. Как показывают результаты исследований, серотиповый профиль возбудителя в разных странах мира разнообразен и имеет значительные различия. Так, в Австралии наибольшее распространение имеют серотипы A-4, C-2, C-4, в Африке – A-1, A-2, C-2, C-3, в Бразилии – A-3, в Германии – A-1, A-2, B-1, C-2, в Израиле – C-3, в Мексике – A-1, A-2, B-1, C-2, в США – A-1, B-1, C-2, в Японии – A-1, C-1 [9].

Третий метод типирования возбудителя основан на использовании моноклональных антител в иммуноферментном анализе [11]. Несмотря на ряд сообщений о достаточной специфичности и приемлемом уровне чувствительности, данный метод не нашел широкого применения в связи с наличием высокого потенциала изменчивости у *A. paragallinarum* и необходимостью создания широкой панели моноклональных антител.

Четвертая схема типирования основана на выявлении термостабильных антигенов в реакции диффузионной преципитации в агаровом геле. Недостатком этого метода является то, что у 6 серовариантов, выявленных по этой схеме, не удалось обнаружить корреляцию с основными иммунотипами возбудителя, поэтому и эта схема не нашла широкого применения [5].

Существует также сывороточный бактерицидный тест, с помощью которого возможно проведение дифференциации серологических групп А и С [18].

В последнее время широкое распространение стали получать методы молекулярной диагностики инфекционного ринита кур на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР), обладающие рядом преимуществ по сравнению с традиционными серологическими методами. ПЦР характеризуется высокой быстротой постановки теста и специфичностью, которая позволяет исключить ложноположительные результаты; делает возможным отбор проб от погибшей птицы; не требует особых времени доставки и условий хранения материала для исследования. Разрабатываются

тест-системы на основе ПЦР в реальном времени, позволяющие с высокой чувствительностью выявлять геном возбудителя инфекционного ринита [14]. Сакамото и соавт. использовали мультиплексную ПЦР для эффективной дифференциации *A. paragallinarum* на крупные генетические группы, которые совпадали с серогруппами [1].

Многочисленные сообщения о недавних вспышках инфекционного ринита в разных странах мира актуализируют проблему данного заболевания в респираторной патологии птиц. Несмотря на успехи в изучении свойств возбудителя и на разработки средств вакцинопрофилактики, ситуация в мировом масштабе остается достаточно сложной, ареал распространения болезни расширяется, что приводит к массовым экономическим потерям [8]. Многие аспекты, касающиеся изучения антигенных свойств изолятов возбудителя инфекционного ринита кур, циркулирующих на территории Российской Федерации и Республики Беларусь, отсутствуют, что существенно осложняет выбор штаммов для разработки отечественных средств специфической профилактики.

Целью данной работы было изучение гемагглютинирующей активности и серогрупповой принадлежности изолятов *A. paragallinarum*, выделенных в Российской Федерации и Республике Беларусь в 2014–2016 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы и изоляты. В работе использовали референтный штамм № 29545 серотипа А-1 из Американской коллекции типовых культур и 10 изолятов *A. paragallinarum*, выделенных от кур с респираторной патологией из птицеводческих хозяйств Российской Федерации и Республики Беларусь. Изоляты хранили в лиофилизированном виде при температуре 2–4 °С или в замороженном виде при температуре –50 °С.

Культивирование штамма и изолятов. Для культивирования штамма и изолятов использовали агар и бульон колумбийские (Becton, Dickinson and Co., США) с добавлением 20 мкг/мл НАД (AppliChem, Гер-

мания) и 5% сыворотки крови лошади. Культивирование бактерий на агаровой среде проводили в течение 24 ч при температуре 37 °С в условиях повышенного содержания углекислого газа. Культивирование штамма и изолятов в жидкой питательной среде проводили в орбитальном шейкере-инкубаторе при 150 об/мин в течение 18 ч при температуре 37 °С в условиях обычной атмосферы.

Получение антигенов. Инактивацию бактерий проводили формалином в конечной концентрации 0,3% по объему при температуре 37 °С в течение 48 ч. Затем клетки осаждали центрифугированием при 3000 g в течение 20 мин при 4 °С, а осадок ресуспендировали в фосфатном буферном растворе с pH 7,2 до концентрации 100 ед. (10^{10} м. к./см³) по оптическому стандарту мутности. В качестве консерванта в антиген добавляли тиомерсал в конечной концентрации 100 мкг/см³. Полученные антигены хранили при температуре 4 °С.

Бактериальные антигены изолятов *A. paragallinarum* подвергали воздействию гиалуронидазы и трипсина. К 1,0 см³ антигена добавляли 100 ед. гиалуронидазы и инкубировали в термостате при 37 °С в течение 2 ч. В другую часть суспензии антигена добавляли 10%-й раствор кристаллического трипсина в конечной концентрации 0,25% и инкубировали при 37 °С в течение 30 мин. По окончании экспозиции антигены центрифугировали при 3000 g в течение 20 мин. Надосадочную жидкость удаляли, а антигены ресуспендировали в исходных объемах фосфатного буферного раствора. В качестве консерванта в антигены добавляли тиомерсал в конечной концентрации 100 мкг/мл.

Приготовление гипериммунных сывороток крови кроликов для типирования изолятов *A. paragallinarum*. Кроличьи антисыворотки готовили по методу А. М. Thornton и Р. J. Blackall [20]. Для иммунизации использовали кроликов массой 2,0–2,5 кг. Первую инъекцию антигена делали в смеси с масляным адъювантом Фрейнда (Sigma) подкожно в объеме 1,0 см³. Через 10 сут проводили 6 последовательных внутривенных инъекций антигена без адъюванта (0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0

Таблица 1
Происхождение изолятов инфекционного ринита кур

№ изолята	Локализация возбудителя при выделении	Возраст птицы, сутки	Направление продуктивности птицы	Регион
1	Подглазничные синусы	53	Яичное	Костромская область
2	Конъюнктивальный мешок	68	Яичное	Московская область
3	Подглазничные синусы	190	Яичное	Оренбургская область
4	Подглазничные синусы	38	Мясное	Московская область
5	Подглазничные синусы	211	Яичное	Республика Беларусь
6	Легкие	170	Яичное	Владимирская область
7	Подглазничные синусы	76	Яичное	Республика Татарстан
8	Подглазничные синусы	164	Яичное	Ярославская область
9	Подглазничные синусы	114	Яичное	Республика Мордовия
10	Подглазничные синусы	80	Яичное	Ульяновская область



Рис. 1. Отечность подкожной клетчатки вокруг глаз и истечение из носовых ходов при инфекционном рините

и 4,0 см³) с интервалом 3 сут. Концентрация антигена составляла 10⁹ м. к./см³. Через 7 сут после последней инъекции у кроликов брали кровь и получали сыворотки, которые хранили в замороженном виде при –20 °С.

Постановка реакции агглютинации. Реакцию агглютинации (РА) ставили в полистироловых планшетах, делая двукратные разведения сыворотки от 1:50 до 1:3200 по традиционной методике [10].

Постановка реакции гемагглютинации (РГА). В круглодонных лунках планшета готовили двукратные разведения антигена в объеме 0,4 см³ на фосфатном буферном растворе, содержащем 0,1% бычьего сывороточного альбумина и 0,001% желатина, начиная с 1:2

до 1:2048. Затем в каждую лунку вносили по 0,4 см³ 1%-й суспензии эритроцитов. Содержимое лунок перемешивали встряхиванием планшета и оставляли при комнатной температуре на 1 ч (до оседания эритроцитов в контроле).

Реакцию оценивали по четырехкрестовой системе. За титр антигена принимали наибольшее разведение антигена, дающее четко выраженную агглютинацию эритроцитов (+++ или ++++). Одновременно проводили тестирование на отсутствие спонтанной агглютинации эритроцитов (отрицательный контроль). Статистическую достоверность различия гемагглютинирующей активности изолятов определяли с вероятностью 95% ($p > 0,05$).

Постановка реакции торможения гемагглютинации микрометодом. Реакцию торможения гемагглютинации (РТГА) микрометодом ставили по традиционной методике [10]. Постановка реакции включала следующие этапы: приготовление взвеси эритроцитов кур с обработкой глутаровым альдегидом, определение гемагглютинирующего титра антигена в РГА и рабочей дозы антигена, постановка реакции.

Для удаления неспецифических ингибиторов гемагглютинации перед постановкой РТГА исследуемые сыворотки инактивировали прогреванием при 56 °С в течение 30 мин. В фосфатном буферном растворе с pH 7,2, содержащем 0,1% бычьего сывороточного альбумина и 0,001% желатина, готовили двукратные разведения сывороток от 1:40 до 1:2560 в объеме 25 мкл. К каждому разведению сыворотки добавляли по 25 мкл рабочей дозы антигена (8 ГАЕ). Смесь встряхивали и выдерживали в течение 1 ч при температуре (20 ± 2) °С, после чего в каждую лунку добавляли по 50 мкл 1%-й суспензии куриных эритроцитов. Смесь повторно встряхивали и оставляли при температуре (20 ± 2) °С в течение 1 ч

Таблица 2
Гемагглютинирующая активность нативных и обработанных ферментами антигенов *A. paragallinarum*

Изолят, штамм	Номер	Нативный антиген		Антиген, обработанный гиалуронидазой		Антиген, обработанный трипсином	
		Свежие эритроциты	Эритроциты, обработанные глутаровым альдегидом	Свежие эритроциты	Эритроциты, обработанные глутаровым альдегидом	Свежие эритроциты	Эритроциты, обработанные глутаровым альдегидом
Изолят	1	1:64	1:512	1:64	1:512	1:64	<1:2
	2	1:64	1:128	1:128	1:256	1:64	<1:2
	3	1:64	1:128	1:64	1:128	1:64	<1:2
	4	1:256	1:512	1:256	1:512	1:256	<1:2
	5	1:256	1:1024	1:256	1:1024	1:256	<1:2
	6	<1:2	1:32	<1:2	1:32	<1:2	1:32
	7	1:128	1:512	1:128	1:512	1:128	<1:2
	8	1:64	1:256	1:64	1:256	1:64	<1:2
	9	1:32	1:256	1:32	1:256	1:32	<1:2
	10	1:16	1:64	1:16	1:64	1:16	<1:2
Штамм	29545	1:4	1:8	1:256	1:512	1:4	<1:2

Таблица 3

Антигенное родство штамма и изолятов *A. paragallinarum* в реакции агглютинации

n = 3

Антиген		Двустороннее родство, R% (среднее значение)										
		Сыворотка, специфичная к антигену										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	29545
Изолят	1	100	96,8	82,4	86,4	92,6	88,4	86,8	98,6	94,2	100	4,2
	2	94,2	100	82,4	100	82,8	94,2	100	88,4	96,8	78,8	23,6
	3	86,8	82,4	100	96,4	90,2	84,6	94,2	90,3	92,4	92,8	12,6
	4	82,4	98,4	92,6	100	86,4	100	98,4	92,8	100	86,2	2,8
	5	92,6	86,4	83,6	78,4	100	87,4	90,2	91,8	94,7	100	4,8
	6	80,7	84,8	62,4	100	96,6	100	87,4	84,3	84,6	94,6	11,8
	7	100	90,2	93,5	10,64	94,2	86,4	100	56,2	94,8	88,2	4,2
	8	86,4	82,8	94,2	100	92,8	78,8	96,0	100	82,8	96,8	11,8
	9	92,4	100	78,8	82,8	86,8	80,4	100	90,4	100	98,4	8,6
	10	100	94,8	80,4	43,6	100	86,2	96,4	84,2	100	100	10,2
Штамм	29545	3,0	17,6	8,2	4,3	2,1	8,7	6,4	11,8	7,4	8,7	100

(до оседания эритроцитов в контроле), после чего проводили учет результатов реакции. При наличии специфических антител в сыворотке, наступала задержка агглютинации эритроцитов. За титр сыворотки принимали предельное разведение, вызывающее полную задержку геммагглютинации.

Определение двустороннего антигенного родства. Степень двустороннего антигенного родства штамма и изолятов *A. paragallinarum* в РА и РТГА рассчитывали по формуле J. Archetti, F. L. Horsfall [3] и выражали в процентах:

$$r_1 = \frac{\text{титр } S_{\text{станд}} / Ag_{\text{испыт}}}{\text{титр } S_{\text{станд}} / Ag_{\text{станд}}}; r_2 = \frac{\text{титр } S_{\text{станд}} / Ag_{\text{испыт}}}{\text{титр } S_{\text{станд}} / Ag_{\text{станд}}}; R\% = 100 \sqrt{r_1 r_2},$$

где титр $S_{\text{станд}} / Ag_{\text{испыт}}$ – титр сыворотки крови кролика, полученный на референтный штамм/изолят с антигеном из испытуемого штамма/изолята;

титр $S_{\text{станд}} / Ag_{\text{станд}}$ – титр сыворотки крови кролика, полученный на референтный штамм/изолят с антигеном из референтного штамма/изолята;

титр $S_{\text{испыт}} / Ag_{\text{станд}}$ – титр сыворотки крови кролика, полученный на испытуемый штамм/изолят с антигеном из референтного штамма/изолята;

титр $S_{\text{испыт}} / Ag_{\text{испыт}}$ – титр сыворотки крови кролика, полученный на испытуемый штамм/изолят с антигеном из испытуемого штамма/изолята;

r_1 и r_2 – коэффициенты одностороннего антигенного родства;

R% – коэффициент двустороннего антигенного родства штамма/изолятов.

Типирование изолятов методом ПЦР. Метод ПЦР включал 3 этапа: выделение ДНК из клеток возбудителя, амплификацию специфического фрагмента генома *A. paragallinarum*, детекцию и анализ продуктов

ПЦР с помощью электрофореза. В работе использовали 4 праймера, предложенные R. Sakamoto и соавт. [16]. Это прямой праймер, общий для амплификации генома *A. paragallinarum* 3 серогрупп, и 3 обратных праймера, специфичные каждый к геному возбудителя определенной серогруппы. Положительными считали результаты при выявлении фрагментов кДНК (ампликонов) на уровне 800, 1000–1100 и 1500–1600 п. н. При этом фрагменты кДНК величиной 800 п. н. свидетельствовали о наличии генома *A. paragallinarum* серогруппы А, 1000–1100 п. н. – серогруппы В, 1500–1600 п. н. – серогруппы С. Отрицательными считали результаты, если не выявлялись указанные фрагменты кДНК или они не соответствовали приведенным величинам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемые изоляты *A. paragallinarum* были выделены в период с 2014 по 2016 г. из патологического материала от птиц в возрасте от 38 до 211 сут из хозяйств Владимирской, Московской, Костромской, Ярославской, Оренбургской и Ульяновской областей, а также Республики Мордовия и Республики Татарстан. Кроме того, 1 изолят был выделен от птиц из Республики Беларусь. Краткая характеристика происхождения изолятов представлена в таблице 1.

Клинические признаки заболевания у кур обычно проявлялись в виде водянистого истечения из носовых отверстий. Иногда у птиц наблюдали опухшие подглазничные синусы и конъюнктивальные мешки (рис. 1). У некоторых кур, вследствие закупорки носовых ходов, отмечали ротовое дыхание с хрипами.

Большинство изолятов возбудителя были выделены от птиц яичного направления продуктивности. Основным местом локализации возбудителя явились

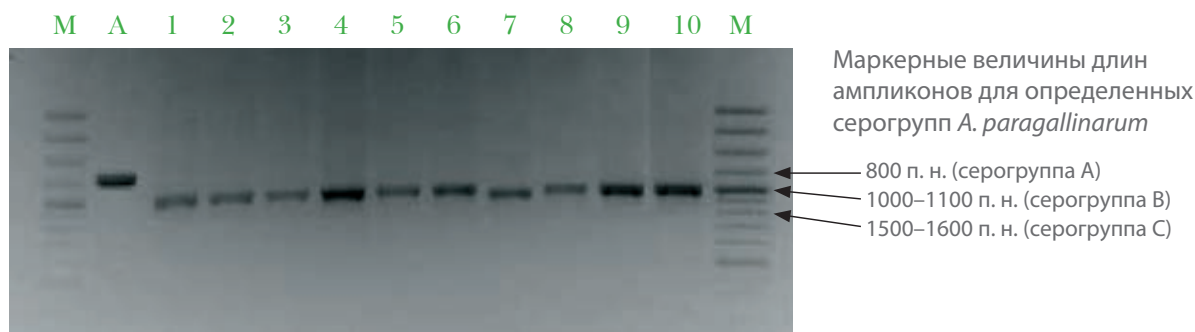


Рис. 2. Электрофореграмма продуктов мультиплекс-ПЦР при исследовании образцов выделенных изолятов и штамма *A. paragallinarum*

М – маркер длин фрагментов ДНК;
 А – ампликон образца штамма № 29545;
 1 – ампликон образца изолята № 1;
 2 – ампликон образца изолята № 2;
 3 – ампликон образца изолята № 3;
 4 – ампликон образца изолята № 4;
 5 – ампликон образца изолята № 5;
 6 – ампликон образца изолята № 6;
 7 – ампликон образца изолята № 7;
 8 – ампликон образца изолята № 8;
 9 – ампликон образца изолята № 9;
 10 – ампликон образца изолята № 10.

подглазничные синусы. О наиболее частом выделении возбудителя инфекционного ринита кур из содержимого подглазничных синусов свидетельствуют результаты исследований ряда авторов [2, 7, 21].

В предыдущей работе опубликованы результаты изучения вирулентных свойств изолятов *A. paragallinarum* для кур [2]. 9 из 10 изолятов оказались патогенными для птиц. При заражении кур различными изолятами *A. paragallinarum* отмечали одинаковую продолжительность периодов течения заболевания. У больных птиц отмечали сходные клинические признаки, проявляющиеся ринитом, синуситом и конъюнктивитом. Несмотря на однотипную динамику развития заболевания у зараженных птиц, вирулентность изолятов оказалась различной. Изолят № 6 оказался апатогенным для кур, а при заражении изолятом № 8 заболеваемость птиц составила 100%. Спустя 21 сут после экспериментального заражения, возбудителя удалось реизолировать из содержимого подглазничных синусов большинства птиц, независимо от наличия и тяжести проявления клинических признаков в период заболевания. Полученные данные свидетельствовали о сохранении *A. paragallinarum* на слизистых оболочках верхних дыхательных путей, что, вероятно, обусловлено наличием адгезинов (гемагглютининов).

Референтный штамм и изоляты возбудителя инфекционного ринита кур по гемагглютинирующей активности представляли собой неоднородную группу. На начальном этапе исследований исключили принадлежность изолятов к серогруппе С, так как для агглютинации эритроцитов не требовалась дополнительная обработка антигенов ультразвуком. 9 из 10 изолятов *A. paragallinarum* обладали гемагглютинирующей активностью в отношении свежих эритроцитов кур (табл. 2).

При использовании эритроцитов, обработанных глутаровым альдегидом, титр гемагглютинации был выше в 2–4 раза, чем при использовании свежих эритроцитов ($p < 0,05$). После обработки антигенов различных изолятов гиалуронидазой их гемагглютинирующая активность не изменилась ($p > 0,05$), что свидетельствует об отсутствии гиалуроновой кислоты в составе капсульной субстанции. После обработки антигенов трипсином гемагглютинирующая активность исчезла, кроме изолята № 6.

Нативный антиген референтного штамма № 29545 серогруппы А обладал слабой гемагглютинирующей активностью в отношении как свежих, так и обработанных глутаровым альдегидом эритроцитов. После обработки антигена гиалуронидазой титр гемагглютинирующей активности стал выше в 64 раза ($p > 0,05$). О наличии гиалуроновой кислоты в составе капсулы у некоторых штаммов и изолятов серогруппы А сообщают и другие исследователи [17]. По данным ряда авторов, штаммы, имеющие в составе капсулы гиалуроновую кислоту, обладают высокой вирулетностью.

Результаты, представленные в таблице 3, свидетельствуют об отсутствии антигенного родства референтного штамма и исследуемых изолятов. Изучаемые изоляты представляли собой гомологичную группу, за исключением изолятов № 6, 7 и 10. Однако при этом не отмечено обратной связи между степенью родства антигена № 6 с сывороткой № 3 и сыворотки № 6 с антигеном № 3.

Нативный антиген референтного штамма *A. paragallinarum* № 29545 оказался инагглютинабельным в гомологичной антисыворотке. Серологическая инертность антигена исчезла после его обработки гиалуронидазой.

Полученные результаты исследований свидетельствуют, что исследуемые изоляты *A. paragallinarum* не принадлежат к серогруппе А.

Данные таблицы 4 показывают, что все исследуемые изоляты представляли собой однородную группу по гемагглютинину. Минимальное значение двустороннего родства составило 78,4%. Полученные данные позволяют предположить, что все исследуемые изоляты принадлежат не только к 1 серогруппе, но и к 1 серотипу.

Гомогенность серогруппы выделенных изолятов подтвердили с помощью типизирующей ПЦР в формате мультиплекс (рис. 2).

ПЦР установлено в результате анализа продуктов, что ампликоны образцов всех исследуемых изолятов имели величину 1000–1100 п. н., что соответствует величине ПЦР-ампликона *A. paragallinarum* серогруппы В.

Таблица 4

Антигенное родство штамма и изолятов *A. paragallinarum* в реакции торможения гемагглютинации

n = 3

Антиген (номер изолята, штамма)	Двустороннее родство, R% (среднее значение)										
	Сыворотка, специфичная к антигену										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	29545
1	100	100	96,8	86,8	92,4	86,4	88,8	92,4	96,7	96,2	6,4
2	92,6	100	94,6	92,6	98,2	94,6	86,6	100	90,2	82,4	7,2
3	98,6	96,4	100	100	84,2	94,8	90,4	98,4	86,2	84,8	10,4
4	100	94,8	95,2	100	94,2	88,4	96,8	100	94,6	98,8	3,6
5	87,6	93,2	87,4	97,8	100	98,2	84,6	90,2	97,2	100	4,8
6	90,2	100	79,6	96,2	86,2	100	88,2	92,6	100	96,4	8,2
7	94,6	96,6	91,3	100	96,8	100	100	98,2	99,3	86,8	2,2
8	88,2	100	96,4	96,3	98,4	92,8	96,8	100	100	88,2	4,8
9	86,6	90,8	87,8	78,4	92,6	94,8	94,2	96,2	100	100	6,2
10	96,6	92,4	92,8	86,4	88,4	86,2	98,0	100	98,4	100	4,2
29545	6,3	4,8	8,6	12,2	6,3	5,2	10,3	4,2	6,8	8,2	100

Таким образом, все выделенные изоляты принадлежали к генетически обособленной серогруппе В, что подтверждают результаты, полученные с помощью серотипирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У 9 изолятов *A. paragallinarum* обнаружен гемагглютинин типа L – термолabileного, трипсинчувствительного, активного в отношении свежих и обработанных глутаровым альдегидом эритроцитов. 1 изолят характеризовался наличием гемагглютинина типа HL – термолabileного, трипсинрезистентного, активного только в отношении эритроцитов, обработанных глутаровым альдегидом. Антиген референтного штамма *A. paragallinarum* № 29545 оказался инагглютинабельным в гомологичной антисыворотке, а также неспособным агглютинировать свежие и обработанные глутаровым альдегидом эритроциты кур. Серологическая и гемагглютинирующая инертность антигена исчезла после его обработки гиалуронидазой. В реакции агглютинации выявлено, что 7 из 10 исследуемых изолятов принадлежали к 1 серологической группе, при этом коэффициент двустороннего антигенного родства составил $\geq 78,4\%$. В реакции торможения гемагглютинации степень антигенного родства между исследуемыми изолятами составила $\geq 92,6\%$, что указывает на их принадлежность не только к 1 серогруппе, но и к 1 серотипу. Между группой исследуемых изолятов и референтным штаммом серогруппы А серологического соответствия в реакции агглютинации ($\leq 23,6\%$) и в реакции торможения гемагглютинации ($\leq 12,2\%$) не выявлено. Методом ПЦР установлено, что все изоляты, выделенные в Российской Федерации и Республике

Беларусь в период с 2014 по 2016 г., принадлежали к генетически обособленной серогруппе В.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андрейчук Д. Б., Чвала Ил. А., Потехин А. В. Методические рекомендации по выявлению генома и типированию микроорганизма *Avibacterium paragallinarum* с помощью ПЦР в формате мультиплекс. – Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2016. – 12 с.
2. Евграфова В. А., Потехин А. В. Вирулентность изолятов возбудителя инфекционного ринита кур // Ветеринария сегодня. – 2017. – № 4 (23). – С. 28–32.
3. Archetti I., Horsfall F. L. Persistent antigenic variation of influenza A virus after incomplete neutralization in ovo with heterologous immune serum // J. Exp. Med. – 1950. – Vol. 92 (5) – P. 441–462; DOI: 10.1084/jem.92.5.441.
4. Blackall P. J. The avian haemophilus // Clin. Microbiol. Rev. – 1989. – Vol. 2 (3). – P. 270–277; DOI: 10.1128/CMR.2.3.270.
5. Blackall P. J. Infectious coryza: overview of the disease and new diagnostic options // Clin. Microbiol. Rev. – 1999. – Vol. 12 (4). – P. 627–632; DOI: 10.1128/CMR.12.4.627.
6. Blackall P. J., Eaves L. E., Rogers D. G. Proposal of a new serovar and altered nomenclature for *Haemophilus paragallinarum* in the Kume hemagglutinin scheme // J. Clin. Microbiol. – 1990. – Vol. 28 (6). – P. 1185–1187; PMID: PMC267902.
7. Blackall P. J., Matsumoto M. Infectious coryza // Diseases of Poultry / ed. Y. M. Saif [et al.]. – 11th ed. – Ames, Iowa, 2003. – P. 691–703.
8. Bragg R. R. Effects of differences in virulence of different serovars of *Haemophilus paragallinarum* on perceived vaccine efficacy // Onderstepoort J. Vet. Res. – 2005. – Vol. 72 (1). – P. 1–6; PMID: 15991700.
9. Characterization of isolates of *Haemophilus paragallinarum* from Indonesia / S. Poernomo, Sutarma, M. Rafiee, P. J. Blackall // Australian Vet. J. – 2000. – Vol. 78 (11). – P. 759–762; DOI: 10.1111/j.1751-0813.2000.tb10447.x.
10. Eaves L. E., Rogers D. G., Blackall P. J. Comparison of hemagglutinin and agglutinin schemes for the serological classification of *Haemophilus paragallinarum* and proposal of a new hemagglutinin serovar // J. Clin. Microbiol. – 1989. – Vol. 27 (7). – P. 1510–1513; PMID: PMC267605.
11. Evaluation of a panel of monoclonal antibodies in the subtyping of *Haemophilus paragallinarum* / P. J. Blackall, Y. Z. Zheng, T. Yamaguchi [et al.] // Avian Dis. – 1991. – Vol. 35 (4). – P. 955–959; PMID: 1786026.

12. Further studies on the use of a polymerase chain reaction test for the diagnosis of infectious coryza / X. Chen, C. Song, Y. Gong, P. J. Blackall // *Avian Pathol.* – 1998. – Vol. 27 (6) – P. 618–624; DOI: 10.1080/03079459808419393.

13. Pathogenicity and serovar-specific hemagglutinating antigens of *Haemophilus paragallinarum* serovar B strains / T. Yamaguchi, P. J. Blackall, S. Takigami [et al.] // *Avian Dis.* – 1990. – Vol. 34 (4). – P. 964–968; PMID: 2149263.

14. Rapid and sensitive detection of *Avibacterium paragallinarum* in the presence of other bacteria using a 5' Taq nuclease assay: a new tool for diagnosing infections coryza / B. G. Corney, I. S. Diallo, L. Wright [et al.] // *Avian Pathol.* – 2008. – Vol. 37 (6). – P. 599–604; DOI: 10.1080/03079450802449139.

15. Reclassification of *Pasteurella gallinarum*, [*Haemophilus*] *paragallinarum*, *Pasteurella avium* and *Pasteurella volantium* as *Avibacterium gallinarum* gen. nov., comb. nov., *Avibacterium paragallinarum* comb. nov., *Avibacterium avium* comb. nov. and *Avibacterium volantium* comb. nov. / P. J. Blackall, H. Christensen, T. Beckenham [et al.] // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2005. – Vol. 55 (Pt). – P. 353–362; DOI: 10.1099/ij.s.0.63357-0.

16. Sakamoto R., Kino Y., Sakaguchi M. Development of a multiplex PCR and PCR-RFLP method for serotyping of *Avibacterium paragallinarum* // *J. Vet. Med. Sci.* – 2012. – Vol. 74 (2). – P. 271–273; DOI: 10.1292/jvms.11-0319.

17. Sawata A., Kume K. Relationships between virulence and morphological or serological properties of variants dissociated from serotype 1 *Haemophilus paragallinarum* strains // *J. Clin. Microbiol.* – 1983. – Vol. 18 (1). – P. 49–55; PMID: PMC270743.

18. Sawata A., Kume K., Nakai T. Serologic typing of *Haemophilus paragallinarum* based on serum bactericidal reactions // *Jpn. J. Vet. Sci.* – 1984. – Vol. 46 (6). – P. 909–912; PMID: 6521153.

19. Sawata A., Kume K., Nakase Y. Biologic and serologic relationships between Page's and Sawata's serotypes of *Haemophilus paragallinarum* // *Am. J. Vet. Res.* – 1980. – Vol. 41 (11). – P. 1901–1904; PMID: 7212424.

20. Thornton A. M., Blackall P. J. Serological classification of Australian isolates of *Haemophilus paragallinarum* // *Aust. Vet. J.* – 1984. – Vol. 61 (8). – P. 251–253; DOI: 10.1111/j.1751-0813.1984.tb15533.x.

21. Virulence of the nine serovar reference strains of *Haemophilus paragallinarum* / V. E. Soriano, G. M. Longinos, R. P. Fernández [et al.] // *Avian Dis.* – 2004. – Vol. 48 (4). – P. 886–889; DOI: 10.1637/7188-033104R1.

REFERENCES

1. Andreychuk D. B., Chvala I. A., Potehin A. V. Methodical guidelines for *Avibacterium paragallinarum* genome detection and typing using multiplex-PCR [Metodicheskie rekomendatsii po vyyavleniyu genoma i tipirovaniyu mikroorganizma *Avibacterium paragallinarum* s pomoshch'yu PCR v formate mul'tipleks]. Vladimir: FGBI "ARRIAH", 2016 (in Russian).

2. Yevgrafova V. A., Potehin A. V. Virulence of chicken infectious coryza agent isolates [Virulentnost' izolyatov vozbuditelya infektsionnogo rinita kur]. *Veterinary Science Today*. 2017; 4 (23): 28–32 (in Russian).

3. Archetti I., Horsfall F. L. Persistent antigenic variation of influenza A virus after incomplete neutralization in ovo with heterologous immune serum. *J. Exp. Med.* 1950; 92 (5): 441–462; DOI: 10.1084/jem.92.5.441.

4. Blackall P. J. The avian haemophili. *Clin. Microbiol. Rev.* 1989; 2 (3): 270–277; DOI: 10.1128/CMR.2.3.270.

5. Blackall P. J. Infectious coryza: overview of the disease and new diagnostic options. *Clin. Microbiol. Rev.* 1999; 12 (4): 627–632; DOI: 10.1128/CMR.12.4.627.

6. Blackall P. J., Eaves L. E., Rogers D. G. Proposal of a new serovar and altered nomenclature for *Haemophilus paragallinarum* in the Kume hemagglutinin scheme. *J. Clin. Microbiol.* 1990; 28 (6): 1185–1187; PMID: PMC267902.

7. Blackall P. J., Matsumoto M. Infectious coryza. *Diseases of Poultry*. ed. Y. M. Saif [et al.]. 11th ed. Ames, Iowa, 2003: 691–703.

8. Bragg R. R. Effects of differences in virulence of different serovars of *Haemophilus paragallinarum* on perceived vaccine efficacy. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2005; 72 (1): 1–6; PMID: 15991700.

9. Characterization of isolates of *Haemophilus paragallinarum* from Indonesia. S. Poernomo, Sutarma, M. Rafiee, P. J. Blackall. *Australian Vet. J.* 2000; 78 (11): 759–762; DOI: 10.1111/j.1751-0813.2000.tb10447.x.

10. Eaves L. E., Rogers D. G., Blackall P. J. Comparison of hemagglutinin and agglutinin schemes for the serological classification of *Haemophilus paragallinarum* and proposal of a new hemagglutinin serovar. *J. Clin. Microbiol.* 1989; 27 (7): 1510–1513; PMID: PMC267605.

11. Evaluation of a panel of monoclonal antibodies in the subtyping of *Haemophilus paragallinarum*. P. J. Blackall, Y. Z. Zheng, T. Yamaguchi [et al.]. *Avian Dis.* 1991; 35 (4): 955–959; PMID: 1786026.

12. Further studies on the use of a polymerase chain reaction test for the diagnosis of infectious coryza. X. Chen, C. Song, Y. Gong, P. J. Blackall. *Avian Pathol.* 1998; 27 (6): 618–624; DOI: 10.1080/03079459808419393.

13. Pathogenicity and serovar-specific hemagglutinating antigens of *Haemophilus paragallinarum* serovar B strains. T. Yamaguchi, P. J. Blackall, S. Takigami [et al.]. *Avian Dis.* 1990; 34 (4): 964–968; PMID: 2149263.

14. Rapid and sensitive detection of *Avibacterium paragallinarum* in the presence of other bacteria using a 5' Taq nuclease assay: a new tool for diagnosing infections coryza. B. G. Corney, I. S. Diallo, L. Wright [et al.]. *Avian Pathol.* 2008; 37 (6): 599–604; DOI: 10.1080/03079450802449139.

15. Reclassification of *Pasteurella gallinarum*, [*Haemophilus*] *paragallinarum*, *Pasteurella avium* and *Pasteurella volantium* as *Avibacterium gallinarum* gen. nov., comb. nov., *Avibacterium paragallinarum* comb. nov., *Avibacterium avium* comb. nov. and *Avibacterium volantium* comb. nov. P. J. Blackall, H. Christensen, T. Beckenham [et al.]. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2005; 55 (Pt): 353–362; DOI: 10.1099/ij.s.0.63357-0.

16. Sakamoto R., Kino Y., Sakaguchi M. Development of a multiplex PCR and PCR-RFLP method for serotyping of *Avibacterium paragallinarum*. *J. Vet. Med. Sci.* 2012; 74 (2): 271–273; DOI: 10.1292/jvms.11-0319.

17. Sawata A., Kume K. Relationships between virulence and morphological or serological properties of variants dissociated from serotype 1 *Haemophilus paragallinarum* strains. *J. Clin. Microbiol.* 1983; 18 (1): 49–55; PMID: PMC270743.

18. Sawata A., Kume K., Nakai T. Serologic typing of *Haemophilus paragallinarum* based on serum bactericidal reactions. *Jpn. J. Vet. Sci.* 1984; 46 (6): 909–912; PMID: 6521153.

19. Sawata A., Kume K., Nakase Y. Biologic and serologic relationships between Page's and Sawata's serotypes of *Haemophilus paragallinarum*. *Am. J. Vet. Res.* 1980; 41 (11): 1901–1904; PMID: 7212424.

20. Thornton A. M., Blackall P. J. Serological classification of Australian isolates of *Haemophilus paragallinarum*. *Aust. Vet. J.* 1984; 61 (8): 251–253; DOI: 10.1111/j.1751-0813.1984.tb15533.x.

21. Virulence of the nine serovar reference strains of *Haemophilus paragallinarum*. V. E. Soriano, G. M. Longinos, R. P. Fernández [et al.]. *Avian Dis.* 2004; 48 (4): 886–889; DOI: 10.1637/7188-033104R1.

Поступила 09.02.18

Принята в печать 29.11.18

ИЗУЧЕНИЕ МЕТОДОМ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ ДИНАМИКИ ТРАНСФОРМАЦИИ ДНК В КУЛЬТУРЕ КЛЕТОК БНК-21/2-17 ПРИ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСА ЯЩУРА

М. Н. Гусева¹, М. А. Шевченко², Д. В. Михалишин³, В. В. Михалишин⁴, Б. Л. Манин⁵

¹ Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

² Ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shevchenko_ma@arriah.ru

³ Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: mihalishin_dv@arriah.ru

⁴ Главный эксперт, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: mihalishin@arriah.ru

⁵ Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: manin_bl@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В задачу исследований входило изучение динамики трансформации ДНК клеток БНК-21/2-17 при репродукции в них вируса ящура. Отмечено, что разрушение основной популяции клеток совпадало по времени с увеличением апоптотических клеток и количеством детрита. Через 3 ч после инфицирования культуры клеток наблюдалось увеличение апоптоза и детрита, уменьшение на 17–21% G_1 -фазы, увеличение в 2,3 раза многоядерных клеток. Через 7 ч резко увеличивалась гибель клеток. Выявлено, что на всех этапах культивирования вируса ящура в суспензионной линии клеток БНК-21/2-17 преобладала диплоидная форма клеток – $G_1(2n)$, которая являлась основой при репродукции вируса. Клетки, находившиеся в синтетической (S), G_2 - и M -фазах, были менее подвержены действию вируса. Проточная цитометрия позволила определить количественные параметры фаз клеточного цикла при репродукции в клетках вируса ящура. Также удалось провести сравнение между этими фазами, жизнеспособностью культуры клеток и динамикой репродукции вируса. Проведенные исследования цитопатического действия вируса ящура в клетках БНК-21/2-17 показали, что одним из направлений оптимизации производства культуральных вакцин может быть применение фактора торможения пролиферации на определенной фазе клеточного цикла.

Ключевые слова: проточная цитометрия, фазы клеточного цикла, суспензия клеток БНК-21/2-17, вирус ящура.

UDC 619:578.835.2:57.082.26

STUDY OF DNA TRANSFORMATION DYNAMICS IN BHK-21/2-17 CELL CULTURE USING FLOW CYTOMETRY DURING FMDV VIRUS REPRODUCTION

M. N. Guseva¹, M. A. Shevchenko², D. V. Mikhilishin³, V. V. Mikhilishin⁴, B. L. Manin⁵

¹ Senior Researcher, Candidate of Sciences (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

² Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shevchenko_ma@arriah.ru

³ Head of Laboratory, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: mihalishin_dv@arriah.ru

⁴ Chief Expert, Doctor of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: mihalishin@arriah.ru

⁵ Leading Researcher, Candidate of Sciences (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: manin_bl@arriah.ru

SUMMARY

The research tasks covered the study of BHK-21/2-17 cell DNA transformation dynamics during FMDV reproduction process. It was noted that the destruction of major cell population coincided with the increase in apoptotic cell number and detritus amount. Three hours post cell culture infection increase in apoptosis and detritus was observed, G_1 -phase decreased by 17–21% and polynuclear cells grew by 2.3 times. In seven hours, the drastic rise in cell death was noted. It was established that at all stages of FMDV culture in BHK-21/2-17 suspension cell line, diploid cells $G_1(2n)$ were predominant, being basic cells for the virus reproduction. Cells in synthetic (S) and G_2 - and M -phases were less susceptible to virus. Using flow cytometry technique made it possible to quantify cell cycle phases during reproduction in FMDV cells. We also succeeded in comparing between these phases, virus livability and virus reproduction dynamics. The study of FMDV cytopathic effect in BHK-21/2-17 cells demonstrated that one of the optimization trends in culture vaccine production include proliferation inhibitory factor use at a certain cell cycle phase.

Key words: flow cytometry, cell cycle phases, BHK-21/2-17 cell suspension, foot-and-mouth disease virus.

ВВЕДЕНИЕ

Ящур – остро протекающее высококонтагиозное заболевание парнокопытных животных. Механизм размножения данного афтовируса носит цитотоксичный характер, сопровождаясь гибелью инфицированных клеток. Цикл репродукции вируса состоит из следующих основных стадий: адсорбция вирионов на поверхности клеток, проникновение внутрь клетки, депротенизация, синтез вирусных компонентов, формирование и выход зрелых вирионов из клетки [7].

Репликация вирусной РНК происходит в цитоплазме клеток в полимеразных репликативных комплексах 70S, обнаруженных на гладких мембранах цитоплазматических вакуолей, которые образуются в процессе инфекции. Эти репликативные комплексы состоят из вирусной РНК, полимеразы и четырех видов клеточных белков [5, 7].

Заражение пикорнавирусами вызывает подавление синтеза клеточных макромолекул: белка, РНК и ДНК. Репликация клеточной ДНК подавляется из-за нарушения синтеза структурных и функциональных белков (ферментов), возникающего в результате репродукции вируса ящура на мембранах эндоплазматической сети клеток. Вопрос о механизмах ингибирования синтеза клеточных белков пикорнавирусами является одним из наиболее дискуссионных [5, 7].

Вирус ящура, как и большинство пикорнавирусов, вызывает в клетках характерные цитопатические изменения. В эндоплазматической сети зараженных клеток появляются мембранные везикулы, количество которых постепенно возрастает. Из-за нарушения проницаемости наружной плазматической мембраны на поздних стадиях репродукции вируса происходит утечка внутриклеточных компонентов, сопровождающаяся сморщиванием клеток [7].

Классический вирусный цикл делится на две части: эклипс-фаза, которая наблюдается в период между инфицированием чувствительных клеток и появлением первых вирионов, – до 2,5 ч; во второй фазе количество вирионов увеличивается, и клетка разрушается через 16–20 ч [5].

Проточная цитометрия – это современный метод, обеспечивающий быстрый, качественный и мульти-

параметрический анализ клеток и получивший широкое распространение в таких областях медицины, как иммунология, фармакология, цитология, онкология, гематология, генетика, инфекционные болезни [1, 4]. Методом проточной цитометрии можно получать самые разные данные: определять содержание в клетке ДНК и РНК, суммарное количество белков и количество специфических белков, узнаваемых моноклональными антителами, исследовать клеточный метаболизм (например, измерять внутриклеточный pH), изучать транспортировку ионов кальция и кинетику ферментативных реакций [6].

У каждой клетки есть период существования: от момента ее образования путем деления материнской клетки до собственного деления или гибели. Этот период называется клеточным циклом. Сам клеточный цикл составляют два периода: 1) период клеточного роста, называемый интерфазой, и 2) период клеточного деления, называемый фазой М (от греческого слова *μήτος* – нить). В свою очередь, в каждом периоде выделяют еще несколько фаз. Обычно интерфаза занимает не меньше 90% времени всего клеточного цикла. Большая часть компонентов клетки синтезируется на протяжении всей интерфазы, это затрудняет выделение в ней отдельных стадий.

В интерфазе выделяют фазу G_1 , фазу S и фазу G_2 . Период интерфазы, когда происходит репликация ДНК клеточного ядра, был назван фазой S (от слова *synthesis*).

Нужно отметить, что в интерфазе (в основном в S-фазе) происходит не только репликация ДНК, но и основной биосинтез структурных и функциональных белков клетки.

Период между фазой М и началом фазы S обозначен как фаза G_1 (от слова *gap* – промежуток), а период между концом фазы S и последующей фазой М – как фаза G_2 [3].

Благодаря использованию в исследованиях проточных цитометров определены важные данные, касающиеся принадлежности клеток к фазам репродуктивного цикла, а также получены результаты, позволяющие оценить продолжительность и доминирование соответствующих фаз клеточного цикла G_1 , S, G_2 + М на разных этапах культивирования.

Таблица

Количество пораженных клеток ВНК-21/2-17 в процессе культивирования вируса ящура

Концентрация живых клеток (млн/мл)	Время (часы)	pH	% поражения клеток
4,0	0	7,34	0
4,0	1	7,33	0
4,0	2	7,29	0
4,0	3	7,32	0
3,84	4	7,28	4
3,04	6	7,25	26
2,20	7	7,40	45
1,32	8	7,50	67
0,72	9	7,51	82
0,36	10	7,56	91

В задачу наших исследований входило изучение динамики трансформации ДНК клеток ВНК-21/2-17 при репродукции в них вируса ящура.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали:

- клетки ВНК-21/2-17, авторское свидетельство СССР № 240289, 1986 г.;
- вирус ящура штамма «Азия-1 Шамир/Израиль 3/89»;
- культиваторы металлические рабочим объемом 1800 дм³(КМ);
- проточный цитометр Accuri C6;
- набор для работы с цитометром BD Cyclents;
- набор для определения ДНК клеток C6 Flow Cytometer Fluid Kit.

Пробы отбирали каждый час в течение всего времени репродукции вируса ящура. Концентрацию клеток ВНК-21/2-17 в суспензии определяли с помощью камеры Горяева для счета форменных элементов крови (модель 851), соответствующей ТУ 64-1-816-84. К 1 см³ клеточной взвеси добавляли равный объем 0,2%-го раствора трипановой сини, тщательно перемешивали и заправляли в камеру. Количество клеток в 1 см³ суспензии определяли по формуле [4]:

$$X = \frac{A \times B \times 4000}{3600} \times 1000,$$

где X – количество клеток в 1 см³;

A – общее количество клеток в камере;

B – разведение суспензии.

Подсчет проводили при 10-кратном увеличении микроскопа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Динамику репродукции вируса определяли по следующим показателям:

- зависимость процента поражения клеток от времени репродукции вируса;
- изменения апоптоза и дебриса;
- изменение стадий (времени) клеточного цикла (G₁, S, G₂ + M).

При культивировании водородный показатель (рН) суспензии и процент поражения клеток ВНК-21/2-17 контролировали каждый час.

Предпринята попытка изучения изменений, происходивших в разные фазы клеточного цикла при культивировании вируса ящура в клетках суспензионной линии ВНК-21/2-17. В стандартных оптимальных условиях интактные популяции по фазам клеточного цикла распределены так: G₁ – 15–20%, G₂ + M – 8–10%, S – 65–75%; количество полиплоидных клеток составляет до 4%, а детритных – 1–4% [2].

В таблице отображена стандартная динамика цитолиза (разрушения) клеток исследуемой клеточной линии при репродукции вируса ящура. В оптимальных условиях (рН не ниже 7,25) основная популяция клеток ВНК-21/2-17 разрушалась за 9–24 ч в зависимости от штамма вируса (до 91% всей популяции).

При сравнении количества клеток, находившихся в апоптозе-дебрисе и в фазе G₁, установили некоторую синхронность между этими фазами: к 3 ч культивирования вируса фаза G₁ сократилась на 15–17%, на такую же величину увеличивался и апоптоз, затем выделялся пик уменьшения G₁ (6 ч) и увеличения апоптоза в эти

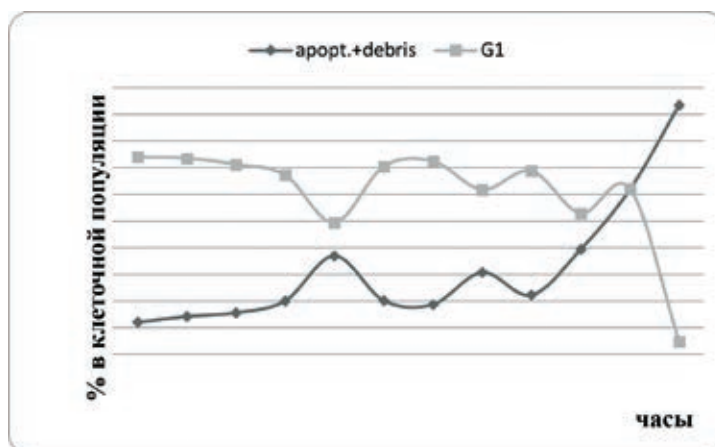


Рис. 1. Изменение процентного соотношения клеток, находившихся на стадиях апоптоза-дебриса и фазы G₁, в культуре ВНК-21/2-17 при репродукции вируса ящура

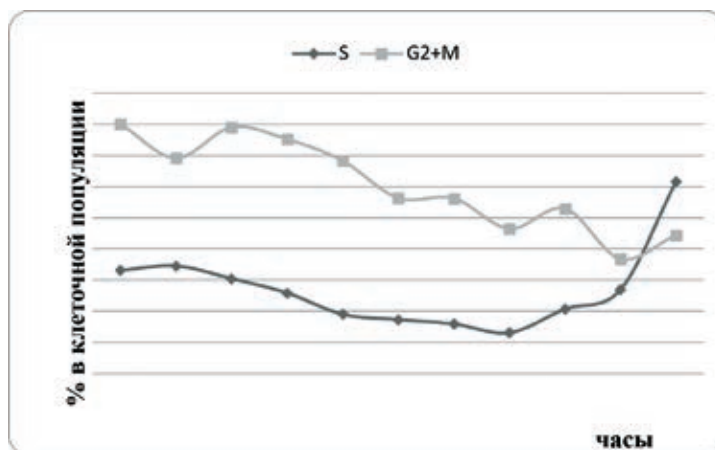


Рис. 2. Изменение процентного соотношения клеток, находившихся на стадиях S и G₂ + M, в культуре ВНК-21/2-17 при репродукции вируса ящура

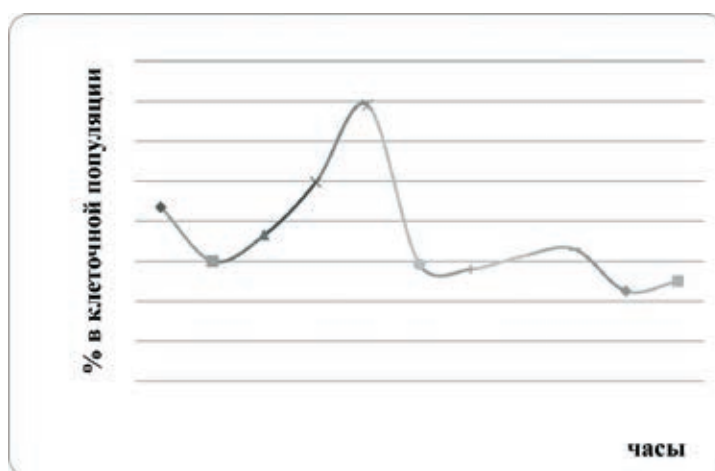


Рис. 3. Изменения количества полиплоидных клеток в культуре ВНК-21/2-17 при репродукции вируса ящура

же сроки. После 9 ч культивирования лавинообразно рос апоптоз и гибли клетки (рис. 1). Такая синхронность в динамике вышеуказанных стадий, вероятно, опреде-

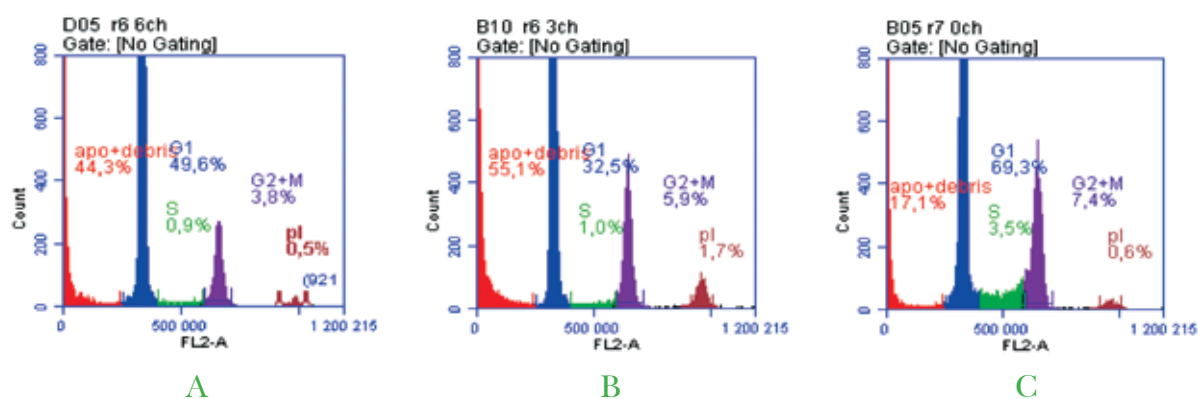


Рис. 4. ДНК-гистограмма клеток ВНК-21/2-17 при репродукции в них вируса ящура сразу после заражения (А), через 3 ч (В), через 6 ч (С) культивирования

ляется повышенной чувствительностью диплоидных клеток к вирусу ящура и быстрой деградацией клеточных мембран до дебриса.

При визуальном определении степени поражения клеток в камере Горяева также установлено, что к 6-му ч культивирования репродукция вируса ящура стала проходить очень интенсивно (табл.). Динамика разрушения популяции по времени совпадала с количеством клеток в апоптозе и количеством мертвых клеток, окрашенных трипановой синью.

Известно, что репликация РНК вируса ящура, в зависимости от вида клеточной культуры, начинается приблизительно через 60–90 мин после заражения. В клетках ВНК-21/2-17 концентрация вируса достигает максимума через 160–170 мин, а зрелые вирусные частицы обнаруживаются приблизительно через 30 мин после начала синтеза РНК и образования вирусспецифических полипептидов [7].

В данных опытах скачок апоптоза и дебриса наблюдался через 3 ч, который, вероятно, совпадал по времени с пиком синтеза вирусспецифической РНК, образования провирионов и частичного образования зрелых вирусных частиц. Через 7–9 ч наблюдался процесс тотального разрушения клеток с выходом из них в суспензию основной массы зрелых вирионов.

В клеточном цикле интактной популяции ВНК-21/2-17 также преобладала диплоидная фаза клеточного цикла (G_1), во время которой начинался синтез мРНК, структурных белков, других клеточных компонентов. На эту фазу приходилось от 30 до 75% клеток в зависимости от условий культивирования [2]. Также в период G_1 -фазы клетки начинали увеличиваться в размерах, активировались мРНК и ферменты, необходимые для будущей репликации ДНК.

Количество клеток, находившихся в фазе G_1 в зараженной вирусом культуре, поддерживалось на уровне 60–75% на протяжении основного времени репродукции вируса, т. е. инфицированные вирусом клетки служили источником энергии и материалом для синтеза вирусных компонентов, а также для сборки цельных вирионов. Это было отмечено и А. П. Пономаревым и соавт. [5].

Переход от диплоидной фазы G_1 в синтетическую (S-фазу) является одной из контрольных точек клеточного цикла. В зависимости от количества питательных веществ и энергии, а также от внешних факторов куль-

тивирования клетка «принимает решение» – вступать в клеточный цикл или же перейти в неделящееся состояние покоя, известное как G_0 -фаза, которая переходит в апоптоз. Основным событием S-фазы является репликация ДНК [3].

Тот факт, что процент клеток, находившихся в S-фазе, при репродукции вируса линейно уменьшался в течение 6 ч (рис. 2), свидетельствует о том, что клетки, находившиеся в этой фазе, также участвовали в репродукции вируса. Через 6 ч репликации вируса количество клеток в S-фазе возрастало линейно вплоть до конца репродукции, что коррелировало с двумя небольшими пиками G_1 и одним пиком G_2 (рис. 1, 2). Из этого следовало, что тетраплоидная фаза G_2 и диплоидная G_1 к концу культивирования, вероятно, пополнялись за счет активизации S-фазы и впоследствии быстро разрушались под действием вируса.

G_2 -фаза – последняя из трех последовательных фаз интерфазной стадии клеточного цикла – вместе с митотической фазой образовывала тетраплоидную популяцию. В интактных клетках ВНК-21/2-17 на фазу подготовки к митозу и сам митоз приходилось от 2 до 18% всей популяции [2], а в инфицированной вирусом ящура культуре – от 3,68 до 8,0% (рис. 2). Вероятно, это было связано с тем, что ингибировались общий биосинтез и функции «клетки-хозяина» в результате биосинтеза компонентов вируса ящура.

С помощью графика изменения количества полиплоидных клеток можно судить о дополнительном механизме действия вируса ящура на клетки: в первые 3 ч количество их увеличивалось, до конца культивирования они полностью не исчезали. Это явление свидетельствовало о частичной резистентности полиплоидных клеток к вирусу (рис. 3).

Очень информативны ДНК-гистограммы клеток ВНК-21/2-17 при репродукции в них вируса ящура после начала заражения и через 3 и 6 ч культивирования (рис. 4). Они поясняют графики, представленные на рисунках 1–3.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при изучении динамики изменений, происходивших в ДНК инфицированных вирусом ящура клеток ВНК-21/2-17, замечено, что через 3 и 6 ч после заражения в клеточной популяции происходило резкое увеличение процента клеток в процессе апоп-

тоза и дебриса. Это коррелировало с количеством мертвых клеток, выявленных с помощью окраски трипановой синью. Затем разрушение клеток приобретало резкий экспоненциальный характер, к 10 ч культивирования вируса процент поражения клеток составлял 90–91%.

Выявлено, что основной мишенью для вируса ящура являлись клетки, находившиеся в G_1 -фазе, которые полностью разрушались к концу культивирования.

Во время фазы $G_2 + M$ не наблюдалось лавинообразного разрушения клеток, неразрушенные клетки были в дальнейшем задействованы в фазе G_1 .

Полиплоидные клетки, которые образовывались в процессе культивирования вируса, были частично резистентны к ящуру и, вероятно, обладали наименьшей чувствительностью к нему. Увеличение количества таких клеток при появлении признаков цитопатического действия свидетельствовало о проявлении механизма слияния клеток под действием вируса.

Проведенные исследования цитопатического действия вируса ящура в клетках ВНК-21/2-17 показали, что одним из направлений оптимизации производства культуральных вакцин может быть применение фактора торможения пролиферации на определенной фазе клеточного цикла.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Войткова В. В. Изучение апоптоза методом проточной цитофлуориметрии (обзор литературы) // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – № 6 (76), ч. 1. – С. 220–225.
2. Исследование клеточного цикла линии ВНК-21/2-17 методом проточной цитометрии / М. А. Шевченко, М. Н. Гусева, Д. В. Михалишин [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2017. – № 4. – С. 58–62.
3. Клетки / под ред. Б. Льюин [и др.]. – М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2011. – 951 с.
4. Основные этапы разработки и применения метода проточной цитометрии в ФГУ РНЦРХТ / А. С. Ягунов, А. В. Карташев, С. В. Токалов, Л. Н. Киселева // Вопросы онкологии. – 2008. – Т. 54, № 4. – С. 494–497.

5. Пономарев А. П., Узюмов В. Л., Груздев К. Н. Вирус ящура: структура, биологические и физико-химические свойства. – Владимир: Фолиант, 2006. – 250 с.

6. Эффективность метода проточной цитометрии в изучении механизмов репарации клеток ВНК-21 в процессе культивирования и криоконсервирования / Б. Л. Манин, В. Т. Ночевный, С. В. Хайдук, В. Н. Ласкавый // Ветеринарна медицина: міжвід. тем. наук. зб. – Харків, 2011. – Вип. 95. – С. 66–70.

7. Ящур: монография / А. Н. Бурдов, А. И. Дудников, П. В. Мальярец [и др.]; под ред. А. Н. Бурдова. – М.: Агропромиздат, 1990. – 320 с.

REFERENCES

1. Voitkova V. V. Apoptosis study using flow cytometry (review) [Izuchenie apoptoza metodom protochnoj citofluometrii (obzor literatury)]. *Acta Biomedica Scientifica*. 2010; 6 (1): 220–225 (in Russian).
2. Study of BHK-21/2-17 cell line cycle using flow cytometry technique [Issledovanie kletchnogo cikla linii VNK-21/2-17 metodom protochnoj citometrii]. M. A. Shevchenko, M. N. Guseva, D. V. Mikhailishin [et al.]. *Veterinary Science Today*. 2017; 4: 58–62 (in Russian).
3. Cells [Kletki]. ed. by B. Lewin [et al.]. M.: BINOM, Laboratoria znaniy, 2011 (in Russian).
4. Basic stages of flow cytometry technique development and use in the FGI RRCRST [Osnovnye etapy razrabotki i primeneniya metoda protochnoj citometrii v FGU RNCRHT]. A. S. Yagunov, A. V. Kartashev, S. V. Tokalov, L. N. Kiseleva. *Problems in Oncology [Voprosi onkologii]*. 2008; 54 (4): 494–497 (in Russian).
5. Ponomarev A. P., Uzyumov V. L., Gruzdev K. N. Foot-and-mouth virus: structure, biological, physical and chemical properties [Virus yashchura: struktura, biologicheskie i fiziko-himicheskie svojstva] Vladimir: Foliant, 2006 (in Russian).
6. Efficacy of flow cytometry in BHK-21 cell restoration mechanism study during culture and cryopreservation processes [Effektivnost' metoda protochnoj citometrii v izuchenii mekhanizmov reparacii kletok VNK-21 v processe kul'tivirovaniya i kriokonservirovaniya]. B. L. Manin, V. T. Nochevny, S. V. Haidukov, V. N. Laskavy. *Veterinarna medicina: mizhvid. tem. nauk. zb. Kharkiv*, 2011; 95: 66–70 (in Russian).
7. Foot and mouth disease: monography [Yashchur: monografiya]. A. N. Burdov, A. I. Dudnikov, P. V. Malyarets [et al.]; ed. A. N. Burdov. M.: Agropromizdat, 1990 (in Russian).

Поступила 05.06.18

Принята в печать 29.11.18

ХРАНЕНИЕ ПОЧЕК ПОРОСЯТ ПРИ СУБНОРМАЛЬНЫХ ТЕМПЕРАТУРАХ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ МОНОСЛОЯ ПЕРВИЧНО ТРИПСИНИЗИРОВАННЫХ КЛЕТОК

Б. Л. Манин¹, Н. В. Коропова², В. А. Стариков³, И. В. Вологина⁴

¹Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: manin_bl@arriah.ru

²Старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия

³Ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: starikov@arriah.ru

⁴Ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: vologina@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Длительное хранение внутренних органов и тканей необходимо для рационализации технологического процесса получения первичных клеток, пригодных для вирусологических исследований. Представлены результаты изучения сохранности органов при субнормальных температурах в лабораторных условиях с целью дальнейшего получения полноценного монослоя первичных клеток. Предложен способ хранения до 6 сут изолированной в стерильных условиях почки 3–5-месячного поросенка. В качестве стабилизирующей субстанции использовали среду 199 без сыворотки с добавлением 100 ед./мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина, 100 ед./мл гентамицина. Для оптимизации химического гомеостаза среды хранения орган помещали в емкость с широким горлом, в которой соотношение среды и воздушной фазы было 1:1, накрывали чашкой Петри. Хранили при температуре от –1 до +4 °С до 6 сут, не допуская кристаллизации среды и органа. Сделано заключение, что любое замораживание с кристаллизацией (при –2 до –4 °С) без криопротекторов отрицательно сказывается на выживаемости клеток и тканей органов. По окончании срока хранения почки проводили трипсинизацию с получением полноценного монослоя первичной культуры. При проведении вирусологических работ все варианты полученного клеточного материала были пригодны для определения авирулентности полуфабрикатов, проведения реакции нейтрализации и выделения вируса ящура. Предложенный метод хранения почек поросят позволяет более рационально использовать донорские органы для получения первичных культур, используемых в вирусологии. Этот способ хранения органов может быть рекомендован для консервирования и транспортировки органов, полученных в полевых условиях от домашних и диких животных.

Ключевые слова: первичная культура клеток почек поросенка, среда 199, субнормальные температуры, трипсинизация, посевная концентрация, вирус ящура.

STORAGE OF PIGLET KIDNEYS AT SUBNORMAL TEMPERATURES FOR PRIMARY TRYPSINIZED CELL MONOLAYER PREPARATION

B. L. Manin¹, N. V. Koropova², V. A. Starikov³, I. V. Vologina⁴

¹Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: manin_bl@arriah.ru

²Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia

³Leading Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: starikov@arriah.ru

⁴Leading Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: vologina@arriah.ru

SUMMARY

Optimization of the technology for preparation of the primary cells suitable for virological studies requires long-term storage of internal organs and tissues. Results of tests of organs stored at subnormal temperatures under laboratory conditions for the purpose of further preparation of complete monolayer of primary cells for their preservation are presented. Method for 6-day storage of kidneys aseptically taken from 3–5 month-old piglets was proposed. Serum-free medium 199 supplemented with 100 U/ml of penicillin, 100 µg/ml of streptomycin, 100 U/ml of gentamycin was used as a stabilizing substance. The organ was placed in a wide-neck vessel at medium/air phase ratio of 1:1 and the vessel was covered by a Petri dish to optimize medium chemical homeostasis and stored at temperature of –1 to +4 °C up to 6 days avoiding medium and organ crystallization. It was concluded that any freezing with crystallization and without cryoprotector (of –2 to –4 °C) had a negative effect on cell and organ tissue survivability. Trypsinization and complete monolayer preparation were carried out upon the kidney storage period completion. All variants of prepared cell materials used for virological studies were suitable for testing semi-preparations for their avirulence as well as for virus neutralization tests and foot-and-mouth disease virus isolation. Proposed method for porcine kidney storage allows more effective use of donor organs for primary culture preparation for virological studies. This method of organ storage could be recommended for preservation and transportation of organs derived from domestic and wild animals under field conditions.

Key words: piglet kidney cell cultures, medium 199, subnormal temperatures, trypsinization, seeding concentration, foot-and-mouth disease virus.

ВВЕДЕНИЕ

Способы сохранения органов человека при субнормальных температурах (0...+4 °C) уже несколько десятилетий применяются в трансплантационной хирургии [8]. Благодаря фундаментальным исследованиям, проведенным с органами животных, было выявлено, что паренхиматозные органы можно пересаживать в течение 1 сут после изъятия от донора, роговицу глаз в течение 3 сут хранения [5, 8, 9]. По окончании этого срока наступают необратимые биохимические и морфологические изменения в тканях, которые приводят к отторжению органа реципиентом [1, 7]. В большинстве случаев необратимые изменения наступают в сосудистых системах (образуются тромбы) и в стромальных тканях, которые обеспечивают приживаемость органов.

В ветеринарной вирусологии, несмотря на рекомендуемые 2–4 ч хранения при 0...+4 °C внутренних органов и тканей [4], сохранение более 2 сут также имеет научно-прикладное значение. Первая причина необходимости в длительном хранении почек – это рационализация технологического процесса получения первичных клеток, когда период трипсинизации необходимо растянуть во времени для получения свежих, не переросших культур, пригодных для вирусологических исследований. Вторая причина – изучение сохранности органов при субнормальных температурах в лабораторных условиях для дальнейшего применения этих данных в полевых условиях с целью получения из сохраненных органов полноценного монослоя первичных клеток. При получении из трипсинизированных органов полноценного монослоя первичных клеток необходимо также изучить их пригодность для вирусологических исследований.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Первично трипсинизированную культуру получали из почек поросят 3–5-недельного возраста с использованием общепринятых методик получения первичных клеточных культур [5, 6]. Хранение изолированных почек осуществляли при +4 °C в среде 199 с 50 мкг/мл гентамицина без сыворотки. Трипсинизацию почек проводили через 1–6 сут хранения.

В процессе эксперимента проведена работа по изучению: адгезивной способности отдельных клеток; их агрегаций; морфологии седиментированных клеток; сроков формирования монослоя; чувствительности к вирусу ящура [2, 3]. Для выращивания первичных клеток почек поросенка (СП) использованы питательная среда Игла с 0,25% ГЛА (Serva) и фетальная сыворотка крупного рогатого скота (Bioclot). Культивирование клеток осуществляли в пенициллиновых флаконах и пластиковых флаконах с площадью роста 25 см².

Анализ морфологии клеток и монослоя проводили с помощью фазово-контрастного микроскопа Olympus CKX41. Также осуществляли подсчет продуктивности первичных клеток после произошедшего на 5–7-е сут образования монослоя.

Чувствительность первичной культуры клеток СП оценивали по результатам титрования рабочей дозы вируса при постановке реакции нейтрализации. Одно и то же разведение культурального вируса ящура титровали на монослое первичной культуры клеток СП, выращенной сразу после трипсинизации. Через 2–3 сут повторяли контроль инфекционности вируса на куль-

туре клеток СП, выращенной после хранения в течение 2–6 сут при температуре 0...+4 °C суспензии клеток или цельных почек поросенка.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первоначально для получения необходимого количества дополнительной первичной клеточной культуры для вирусологических целей использована суспензия трипсинизированных клеток, которая хранилась 48 ч при +4 °C. Монослой клеток удалось получить (при посеве 200 000 кл. в мл) за 5 сут, но после исследования по репродукции вируса ящура выявлено, что клетки были малочувствительны к вирусу (табл. 1).

Результаты, представленные в таблице 1, подтверждают факт негативного воздействия хранения трипсинизированной суспензии клеток при +4 °C на чувствительность клеток СП к вирусу. Также необходимо отметить, что после хранения в течение 2 сут суспензии первично трипсинизированных клеток СП формируется монослой с большим количеством агрегатов и стромальных фибробластных клеток. Отмечен большой процент неспецифической дегенерации монослоя в процессе постановки реакции нейтрализации.

При морфологической оценке монослоя выяснили, что в межклеточном пространстве присутствует в большом количестве внеклеточный матрикс – белок, который, вероятно, частично изолирует клетки от вирусов (рис. 1) и тем самым снижает чувствительность клеток к вирусу ящура. Поэтому было решено провести исследования по трипсинизации почек, хранившихся в питательной среде при температуре, близкой к 0 °C.

После забора почек от 4-недельных поросят органы помещали во флакон с широким горлом с питательной средой 199, в которую добавляли 50 мкг/мл гентамицина. Флакон накрывали стерильной чашкой Петри, помещали в бытовой холодильник, в котором поддерживали температуру, близкую к 0 °C. Флакон с органом не был герметизирован пробкой для прохождения процесса пассивного газообмена с окружающим воздухом. Такое условие хранения выполнено для того, чтобы избежать закисления среды, так как даже в охлажденных

Таблица 1
Результаты определения чувствительности культуры клеток СП, полученной из хранившейся суспензии, к вирусу ящура

Тип вируса	Титр культурального вируса ящура (lg ТЦД ₅₀ /0,1 см ³) на культуре клеток	
	суспензия клеток СП, нативная	суспензия клеток СП, хранившаяся 48 ч при +4...+6 °C
А	2,00	2,00
	2,50	2,75
	2,75	2,50
0	1,75	0,75
	2,0	1,25
Азия-1	2,00	1,75
	2,00	1,00
<i>M ± m</i>	2,11 ± 0,15	1,71 ± 0,29

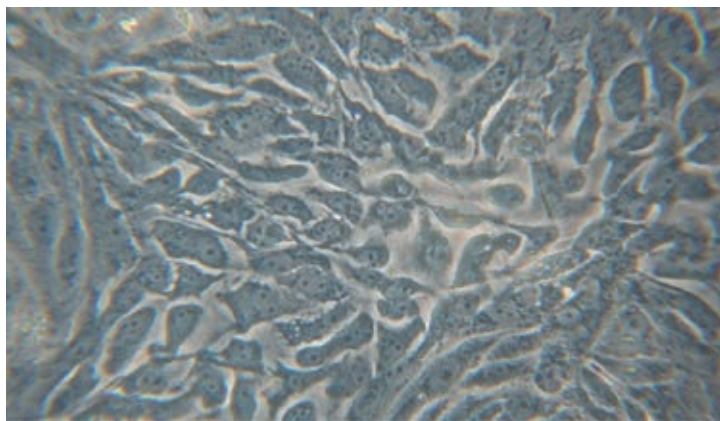


Рис. 1. Монослой первичных клеток СП с внеклеточным матриксом

органах идет гликолиз [5]. При хранении в течение 96 ч почки поросенка в 100 мл среды 199 при температуре, близкой к 0 °С, рН среды повысилась с 7,0 до 7,1–7,2. Во флаконе со средой 199, где не было органа, рН повысилась до 7,6. Стабилизация рН среды, где находится почка, свидетельствует о том, что ткани дышат, утилизируют глюкозу и выделяют углекислый газ и метаболиты.

Следующим этапом исследования было изучение влияния замораживания органов при температуре –2...–4 °С на качество получаемых культур клеток. Для получения клеток проведена трипсинизация почки поросенка после оттаивания кристаллической фазы системы «среда + почка» (т. е. почка была во льду и, вероятно, сама была частично заморожена). Затем суспензию клеток посеяли в пенициллиновые флаконы

и пластиковые матрасы с площадью роста 25 см². Не окрашенные трипановой синью клетки (концентрация 200 000 кл./мл) при посеве не адгезировались и не формировали монослой. Дезагрегированные клетки оказались на стадии апоптоза. Сделано заключение, что любое замораживание с кристаллизацией без криопротекторов отрицательно сказывается на выживаемости на 90% состоящих из воды клеток и тканей органов [1, 9].

Хранившиеся при +2 °С в течение 2–6 сут почки поросенка не изменяли свою консистенцию и цвет. Корковый слой измельчали стальными ножницами и диспергировали теплым раствором трипсина стандартным способом. Из 1 г почечной ткани получали до 30 млн клеток, не окрашенных трипановой синью. Как было выявлено в предыдущих работах, трипсинизированные клетки были полиморфны и принадлежали к разным гистотипическим тканям, не все клетки были способны образовывать колонии [2, 4].

При проведении данных экспериментов клетки, полученные из хранившихся при +2 °С в течение 2–6 сут почек, также были полиморфны и в дальнейшем имели стандартную динамику седиментации, адгезии и пролиферации. Первый показатель сохранности клеток после трипсинизации – это количество жизнеспособных клеток, полученных из 1 г почечной ткани и тестированных окрашиванием трипановой синью. Количество живых клеток, полученных из 1 г почечной ткани, во всех случаях равнялось в среднем 15–20 млн.

В процессе проведения опытов по хранению почек при температурах, близких к 0 °С, изучены морфологические характеристики первичных клеток в зависимости от возраста монослоя (рис. 2–5).

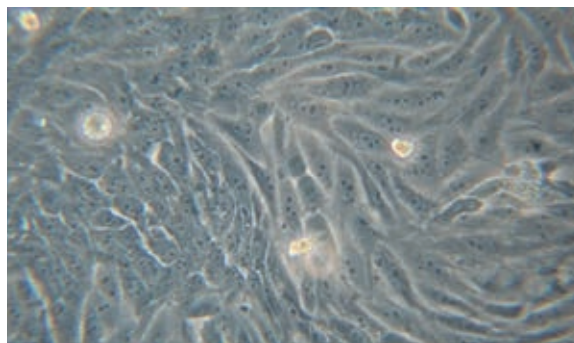


Рис. 2. Клеточная культура СП, полученная без предварительного хранения почки

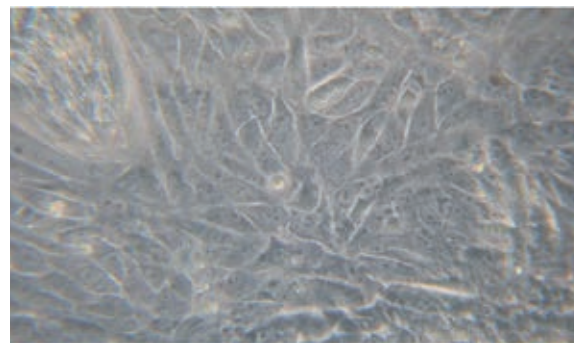


Рис. 3. Клеточная культура СП, полученная после хранения почки в течение 72 ч

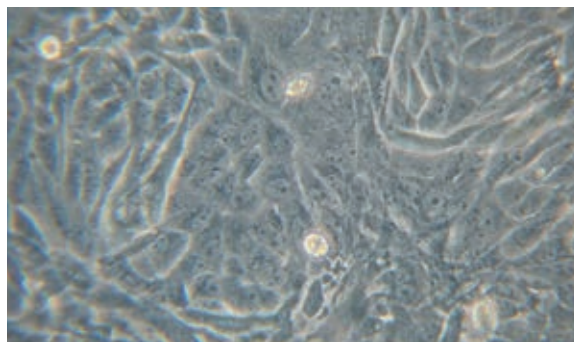


Рис. 4. Клеточная культура СП, полученная после хранения почки в течение 96 ч

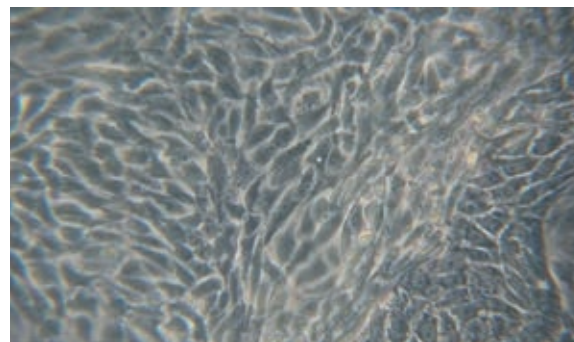


Рис. 5. Клеточная культура СП, полученная после хранения почки в течение 144 ч

Таблица 2

Характеристика полученного монослоя первичных клеток в зависимости от срока хранения почек поросят при +2 °С

Длительность хранения почек при +2 °С, ч	Посевная концентрация, кл./мл	Время формирования монослоя, сутки	Качество монослоя	Чувствительность к вирусу ящура
0	150 000	5	стандартно полиморфное	стандартная
24	120 000	5	стандартно полиморфное	стандартная
48	120 000	5	стандартно полиморфное	стандартная
72	150 000	5	стандартно полиморфное	стандартная
96	150 000	6	стандартно полиморфное	стандартная
120	170 000	6	стандартно полиморфное	стандартная
144	180 000	7	стандартно полиморфное	стандартная

Как видно из представленных рисунков 2–5, сформированный монослой во всех случаях представлен полиморфными клетками с минимальным количеством внеклеточного матрикса. После хранения почек от 0 до 3 сут при температуре, близкой к 0 °С, и последующей трипсинизации тканей коркового слоя (при оптимальной посевной концентрации клеток) монослой формируется за 5 сут; при хранении от 4 до 5 сут полноценный монослой образуется за 6 сут. При 6-суточном хранении почек монослой сформировался за 7 сут с преобладанием нормальных полиморфных клеток без внеклеточного матрикса (табл. 2).

При визуальном наблюдении почки поросят при температуре хранения, близкой к 0 °С, не меняют цвет, также отсутствуют явные признаки некроза, диспергирование трипсином происходит в стандартном режиме. Однако после 5-суточного хранения почек пролиферативная активность выживших после трипсинизации клеток ниже на 15–20%. Динамика формирования монослоя запаздывает в среднем на 1 сут. Во всех опытах контаминации банальной микрофлорой не наблюдали и первичную культуру получали стерильной.

При проведении вирусологических работ все варианты полученного клеточного материала были пригодны для определения авирулентности полуфабрикатов, проведения реакции нейтрализации и выделения вируса ящура (табл. 3).

Чувствительность клеток к вирусу ящура была сравнима с контролем. Цитопатическое действие вируса ящура на клетки, полученные после хранения органа до 6 сут, было типичным и интенсивным (рис. 6).

В процессе постановки вирусологических реакций удалось проанализировать динамику и специфику цитопатического действия вируса ящура на первичные клетки. В первую очередь поражаются эпителиоподобные клетки монослоя. Они становятся сферическими, процесс деадгезирования сопровождается появлением множества цитоплазматических выростов. Через некоторое время поверхность клеток становится гладкой, затем зернистой, и далее происходит фрагментация, т. е. разрушение монослоя до детрита. Сделано предположение, что эпителиоподобные клетки выросшего монослоя являются предшественниками эпителиальных тканей, выстилающих поверхность боуменовых капсул, которые первыми принимают на себя контакт

с вирусами, циркулирующими в организме поросят. Потомки стромальных клеток сосудов и органов (фибробласты) поражаются вирусной инфекцией в последнюю очередь.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Данных об условиях хранения почек животных для получения первичных клеточных культур в литературных источниках найдено не было. Проведенные исследования позволяют говорить о возможности более длительного использования донорских органов.

Таблица 3

Влияние хранения почек поросенка на чувствительность монослоя первично трипсинизированной культуры клеток к вирусу ящура

Тип вируса	Титр культурального вируса ящура (lg ТЦД ₅₀ /0,1 см ³) на культуре клеток	
	суспензия клеток СП, нативная	суспензия клеток СП, хранившаяся 48 ч при 0...+4 °С
А	2,25	2,00
	2,50	3,00
	2,00	2,75
	2,50	2,75
	3,00	2,75
	2,00	1,75
	2,50	2,00
	2,50	3,00
0	2,00	2,75
	2,00	2,50
Азия-1	2,25	2,00
	2,00	2,25
<i>M ± m</i>	2,29 ± 0,09	2,46 ± 0,13

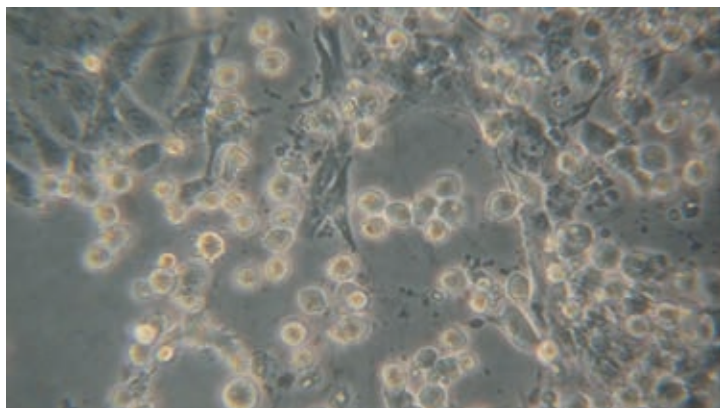


Рис. 6. Дегенерация монослоя первичных клеток СП при взаимодействии с вирусом ящура

Выявлено, что хранение почек в стерильных условиях при температуре, близкой к 0 °С, не приводит к кристаллизации органов, в то же время сохраняется жизнеспособность гистотипических клеток, которые после трипсинизации и получения полноценного монослоя чувствительны к вирусу ящура.

Определено, что кристаллизация среды и почек во время хранения при температуре –2...–4 °С ведет к необратимым изменениям в трипсинизированных клетках, которые после инокуляции в культуральные сосуды не адгезируются и не образуют колоний.

В результате проведенных опытов показано, что при хранении в холодильнике при +4 °С в течение 2 сут первично трипсинизированных клеточных суспензий происходит частичная гибель эпителиальных клеток, наиболее чувствительных к вирусу ящура. В то же время хранение почек при субнормальных температурах (0...+2°С) от 2 до 6 сут позволяет получать после трипсинизации нормальные популяции первичных клеток с высокой чувствительностью к вирусу.

Предложенный метод хранения почек поросят позволяет более рационально использовать донорские органы для получения первичных культур, используемых в вирусологии. Этот способ хранения органов может быть рекомендован для консервирования и транспортировки органов, полученных в полевых условиях от домашних и диких животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кирпатовский В. И., Кудрявцев Ю. В. Криоконсервация почки крысы и кролика // Успехи современной криобиологии: материалы 11-й международной конф. – Харьков, 1992. – С. 82–83.
2. Манин Б. Л., Коропова Н. В. Влияние артефактов биологического статуса поросят на культивирование первичной культуры, полученной из почки // Тр. Федерального центра охраны здоровья животных. – Владимир, 2012. – Т. 10. – С. 238–245.
3. Манин Б. Л., Коропова Н. В., Стариков В. А. Способ хранения почки поросенка для получения первично трипсинизированных клеток и использование его в вирусологических

исследованиях: пат. 2646135 Российская Федерация, МПК A01N1/02 (2006.01). – № 2016140461; заявл. 14.10.16; опубл. 01.03.18.

4. Ночевный В. Т. Комплексная стандартизация получения первичных культур клеток // Цитология. – 1999. – Т. 41, № 3–4. – С. 298–299.

5. Трошина В. П. Функциональное состояние изолированных тканей при температуре, близкой к нулю // Вестник Ленинградского ун-та. – 1957. – № 3. – С. 111–121.

6. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток. Практическое руководство. – М.: Бином. Лаборатория знаний, 2011. – 691 с.

7. Юрченко Т. Н., Жуликова Е. П., Говоруха Т. П. Структурно-функциональные показатели клеток печени на этапах подготовки к криоконсервации // Проблемы криобиологии. – 1991. – № 1. – С. 8–16.

8. Янгсон Р.-М. Хирургия. Что и зачем делает хирург? – Минск: Попурри, 1997. – 592 с.

9. Jeske A. H., Fonteles M. C., Karow A. M. Functional preservation of the mammalian kidney. III. Ultrastructural effects of perfusion with dimethylsulfoxide (DMSO) // Cryobiology. – 1974. – Vol. 11 (2). – P. 170–181; DOI: 10.1016/0011-2240(74)90307-1.

REFERENCES

1. Kirpatovsky V. I., Kudryavtsev Yu. V. Cryopreservation of rat and rabbit kidneys [Kriokonservatsiya pochki krysy i krolika]. *Achievements of modern cryobiology: Proceedings of the 11th International Conference*. Kharkov, 1992; 82–83 (in Russian).
2. Manin B. L., Koropova N. V. Effect of pig biological status artifacts on cultivation of kidney-derived primary cultures [Vliyaniye artefaktov biologicheskogo statusa porosyat na kul'tivirovaniye pervichnoy kul'tury, poluchennoy iz pochki]. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. Vladimir, 2012; 10: 238–245 (in Russian).
3. Manin B. L., Koropova N. V., Starikov V. A. Method of storage of porcine kidneys for primary trypsinized cell preparation and their use in virological studies [Sposob hraneniya pochki porosenka dlya polucheniya pervichno tripsinizirovannykh kletok i ispol'zovanie ego v virusologicheskikh issledovaniyakh]: patent No. 2646135 Russian Federation, MPK A01N1/02 (2006.01). No. 2016140461; applied on 14.10.16; published on 01.03.18 (in Russian).
4. Nochevny V. T. Integrated standardization of primary cell culture preparation [Kompleksnaya standartizatsiya polucheniya pervichnykh kul'tur kletok]. *Cell and Tissue Biology*. 1999; 41 (3–4): 298–299 (in Russian).
5. Troshina V. P. Functional state of isolated tissues at temperatures close to zero [Funktsional'noe sostoyaniye izolirovannykh tkanej pri temperature, blizkoj k nulyu]. *Vestnik Leningradskogo universiteta*. 1957; 3: 111–121 (in Russian).
6. Freshney R. *Yan Culture of Animal Cells. A Manual of Basic Technique*. M.: Binom. Laboratoriya znaniy, 2011 (in Russian).
7. Yurchenko T. N., Zhulikova Ye. P., Govorukha T. P. Structural and functional characteristics of kidney cells at the stages of their preparation for cryopreservation [Strukturno-funktsional'nye pokazateli kletok pecheni na etapah podgotovki k kriokonservatsii]. *Problems of Cryobiology*. 1991; 1: 8–16 (in Russian).
8. Yangson R.-M. *Khirurgiya. What and why surgeon is doing? [Hirurgiya. Chto i zachem delaet hirurg?]* Minsk: Poppuri, 1997. (in Russian).
9. Jeske A. H., Fonteles M. C., Karow A. M. Functional preservation of the mammalian kidney. III. Ultrastructural effects of perfusion with dimethylsulfoxide (DMSO). *Cryobiology*. 1974; 11 (2): 170–181; DOI: 10.1016/0011-2240(74)90307-1.

Поступила 05.06.18

Принята в печать 20.11.18

ГЛОБАЛЬНАЯ ЭПИЗООТОЛОГИЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ.

1. ВОСПРИИМЧИВЫЕ ЖИВОТНЫЕ

Махамат Нгуерабе Ямтитина¹, В. В. Макаров²

¹ Аспирант, Российский университет дружбы народов (РУДН), г. Москва, Россия, e-mail: mhtnguerabe@mail.ru

² Доктор биологических наук, профессор, Российский университет дружбы народов (РУДН), г. Москва, Россия, e-mail: vvm-39@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Распространение сибирской язвы носит повсеместный характер. Эпизоотии постоянно регистрируются во всем мире. Обязательная летальность заболевания, возбудитель которого ведет паразитоидный образ существования, позволяет считать именно смертность в качестве основного признака эпизоотического процесса сибирской язвы животных. Рассматривается восприимчивость животных к сибирской язве в естественных условиях. Приведены литературные данные относительно участия животных разных видов и групп в эпизоотическом процессе и результаты собственного анализа ситуации за последнее время. Восприимчивость того или иного вида животных к сибирской язве зависит не только от дозы, но и от формы (вегетативная или спорная) сибиреязвенного микроба, способа заражения, места внедрения возбудителя в организм. Сибирская язва установлена у млекопитающих 19 видов: крупный рогатый скот, составляющий абсолютное большинство, что подтверждает ведущую роль этих животных в качестве соактанта и хозяина в глобальной паразитоидной системе, овцы и козы, лошади, свиньи, многие дикие жвачные и травоядные, среди которых преобладают олени, газели, бизоны, гиппопотамы и даже слоны, а также плотоядные и хищники. В поддержании стационарности природных (почвенных) очагов сибирской язвы наибольшее значение остается за травоядными животными-эндемиками конкретных территорий и зон, обеспечивающими инфекционные циклы и регулярную реконтаминацию почвы как единственного резервуара инфекции. Подобная полипатогенность отражает преимущественный гостальный состав локальных паразитоидных систем — крупного и мелкого рогатого скота в зонах пастбищного, отгонного, свободного скотоводства (Африка, Азия, Австралия), диких травоядных в Африке и на юге США, бизонов в Канаде, оленей на севере РФ. Заражение лошадиных и особенно хищников имеет спорадический, тупиковый характер, относительно редко и не существенно в эпизоотологии и тем более эпидемиологии сибирской язвы.

Ключевые слова: сибирская язва, эпизоотология, восприимчивость, восприимчивые животные.

UDC 619:616.98:579.852.11

ANTHRAX GLOBAL EPIZOOTOLOGY.

1. SUSCEPTIBLE ANIMALS

Makhamat Nguerabe Yamtitina¹, V. V. Makarov²

¹ Post-Graduate Student, People's Friendship University of Russia (RUDN), Moscow, Russia, e-mail: mhtnguerabe@mail.ru

² Doctor of Science (Biology), professor, People's Friendship University of Russia (RUDN), Moscow, Russia, e-mail: vvm-39@mail.ru

SUMMARY

Anthrax is a widespread disease. Epizootic outbreaks are constantly registered worldwide. Obligatory lethality of the disease, the causative agent of which leads a parasitic mode of life, makes it possible to consider mortality as the main sign of anthrax epizootic process in animals. The paper describes susceptibility of animals to anthrax under natural conditions. The paper presents literature data on the participation of animals of different species and groups in the epizootic process, and the author's own results of analysis of the recent situation. The susceptibility of animal species to anthrax depends not only on the dose, but also on the form (vegetative or spore) of the anthrax bacterium, the mode of infection, and the site of introduction of the pathogen into the organism. Anthrax affects mammals of 19 species: mostly cattle, which are intermediate hosts and hosts in the global parasitoid system; sheep and goats, horses, pigs, many species of wild ruminants and herbivorous, mostly deer, gazelles, bison, hippopotamuses and even elephants, as well as Carnivora. Herbivorous endemic animals play the main role in maintenance of natural (soil) foci of anthrax and provide infectious cycles and regular recontamination of the soil — the only reservoir of infection. Such multipathogenicity demonstrates the predominant host range of local parasitoid systems — cattle and small ruminants in the areas of pasture, distant-pasture, free-range cattle rearing (Africa, Asia, Australia), wild herbivores in Africa and the south of the USA, bison in Canada, deer in the north of the Russian Federation. Infection of Equidae and particularly predators has a sporadic, dead-end character. It occurs relatively seldom and does not play any significant role in anthrax epizootology and epidemiology.

Key words: anthrax, epizootology, susceptibility, susceptible animals.

Универсальная восприимчивость к сибирской язве млекопитающих практически всех видов (домашних и диких травоядных, плотоядных и др.), их обязательная смертность, высокая опасность и злокачественность течения болезни для человека, новые формы угроз в здравоохранении (биотерроризм, наркотики, разнообразные нарушения ветеринарно-санитарных требований вплоть до криминальных), ее повсеместное распространение во всем мире – вот неполный перечень факторов особого, непреходящего значения инфекции на современном этапе [2, 3, 5].

В обычном понимании формы течения сибирской язвы у наиболее распространенных животных различают по скорости развития: молниеносная апopleктическая инфекция у овец, острая у крупного рогатого скота и лошадей, хроническая у свиней. Другие домашние животные, в том числе мелкие, и человек обладают относительной резистентностью. Сведений по эпизоотологии и патологии относительно животных прочих видов, особенно представителей дикой фауны, крайне недостаточно, и они имеют исключительно статистический характер. Преимущественное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение представляет заболеваемость продуктивных животных – крупного и мелкого рогатого скота [2, 6, 7, 9].

Первый признак вспышки сибирской язвы – внезапная смерть одного или более животных в стаде как неотъемлемый итог патогенеза с чрезвычайно высокой бациллемией и внутриорганизменный этап двухфазного инфекционного цикла, хотя животноводы могут ретроспективно отмечать некоторые клинические отклонения от нормы (отказ от корма, снижение удоя, опухание в подчелюстной ямке; именно в этой стадии возможна и эффективна этиотропная терапия). У животных с высокой восприимчивостью период между появлением видимых симптомов и смертью может составлять всего несколько часов. В таком случае первостепенное значение для немедленного подозрения на сибирскую язву имеет история эпизоотической обстановки в регионе, инциденты внезапной смертности, особенно хронологически близкие к землеройным работам (пахота, раскопки, углубление водоемов и т. п.) [6, 7, 9].

Следует отметить, что наружных карбункулезных поражений, подобных кожной форме сибирской язвы у человека, у животных не регистрируется. Любые инвазивные манипуляции с животными и трупами, подозрительными по заболеванию анаэробными инфекциями, чрезвычайно опасны с точки зрения последующей контаминации спорами возбудителей окружающей среды и законодательно запрещены. Основное внимание в посмертной диагностике уделяется состоянию трупа. Признаки, дающие основание подозревать сибирскую язву у крупного рогатого скота и других жвачных, – отсутствие трупного окоченения, чрезмерное прогрессирующее вздутие, выделение крови из отверстий, несвернувшаяся («лаковая») кровь [1, 6, 7, 9].

Хроническая форма течения сибирской язвы у свиней встречается редко, сопровождается проявлениями фарингеального ангинозного воспалительного процесса в области миндалин, отеком горла и подчелюстного пространства [6, 7, 9].

По сравнению с травоядными плотоядные животные, как домашние, так и дикие, в естественных условиях проявляют достаточную резистентность к сибирской язве. Собаки считаются мало восприимчивыми, но

регистрируются нередкие случаи заболеваний при поедании ими фрагментов сибиреязвенных туш. Например, заражение и смертность собак и кошек встречается в эндемичных странах Африки, особенно во время эпизоотических вспышек, когда при потреблении абортгенами мяса сибиреязвенных коров боенские отходы, в частности, селезенки, увеличенные в размерах вследствие болезни, скармливались мелким домашним животным. Летальность собак достаточно низкая, но при этом формируется серопозитивность к антигенам *Bacillus anthracis*. Известны аналогичные случаи заболевания лисиц в Великобритании [6, 7, 9, 11].

Сибиреязвенная инфекция как болезнь диких млекопитающих хорошо известна в Центральной и Южной Африке, Северной Америке, Заполярье России. Многочисленные гиперспорадические вспышки и эпизоотии (нередко широкомасштабные) зарегистрированы на протяжении сотен лет среди представителей оленевых и бизонов в Северном полушарии, среди различных травоядных (антилопы, зебры, бегемоты, носороги, слоны) и плотоядных (особенно гепардов) в Африке. Распространенная серопозитивность к антигенам *Bac. anthracis* у хищников, падальщиков и прочих плотоядных, указывающая на их пищевые предпочтения, косвенно также характеризует экологическую активность сибиреязвенной инфекции и напряженность эпизоотической ситуации [6, 7, 9].

Зарегистрированы естественная заболеваемость верблюдов, буйволов, норок, барсуков, хорьков, енотов, шимпанзе, многочисленные случаи непреднамеренного заражения и гибели животных, содержащихся в неволе и потребляющих субпродукты и боенские отходы (пума, леопард, лев, волк, рысь, сервал, койпу, муравьед, белый медведь и др.) [6, 7].

В фундаментальной аналитической работе М. Hugh-Jones и V. De Vos, специально посвященной сибирской язве у диких животных, показано, что имеются случаи регистрации заболевания сибирской язвой среди содержащихся в зоологических садах и на страусиных фермах черепах, птиц (страус, утки, журавль), разнообразных хищников (около 30 видов) и млекопитающих других категорий с нетривиальной восприимчивостью (более 20 видов). Помимо спорадических случаев среди животных, ведущих свободный образ жизни или содержащихся в неволе (эпизоотического паттерна, типичного для сибиреязвенной инфекции), отмечена возможность возникновения и развития энзоотий и эпизоотий среди стадных животных (зебры, антилопы, бизоны, олени) [11].

При этом заболеваемость и смертность диких животных, особенно травоядных, сопровождались каноническими признаками сибиреязвенной инфекции. Принципиально важно в контексте инфекционного цикла и эффективности посмертной контаминации окружающей среды, что бациллемия в терминальной стадии достигала уровней от десятков тысяч до миллиарда КОЕ/мл. Согласно опубликованным данным, титры КОЕ/мл *Bac. anthracis* составляли: в крови зебр – 10^6 – 10^8 , антилоп – 10^8 , гепардов – 10^8 , макак-резусов – 10^4 – 10^9 , шимпанзе – 10^9 , слонов – 10^6 – 10^8 , овец и коз – 10^8 [6, 7, 11].

Если заболеваемость домашних животных в целом доступна для контроля, осуществляемого повсеместно, по крайней мере, в странах с удовлетворительным уровнем ветеринарного надзора (диагностика, вакцинация, ликвидация последствий), то в экзотических регионах Африки и Азии, а также в Северной

Таблица

Суммированные данные по ЛД₅₀ спор *Bac. anthracis* для животных разных видов

Животные	Способ заражения	ЛД ₅₀	Ссылки	Способ заражения	ЛД ₅₀	Ссылки	Способ заражения	ЛД ₅₀	Ссылки
Морские свинки	парентерально	<10–50	Lincoln et al. (1967); Schlingman et al. (1956); Watson, Keir (1994); De Vos (1990); De Vos, Scheepers (1996)	ингаляционно	2–4 × 10 ⁴	Watson, Keir (1994); Zaucha et al. (1998); Lincoln et al. (1967); Fildes (1943)	алиментарно	10 ⁸	Fildes (1943); Druett et al. (1953); Carter, Pearson (1999); Schlingman et al. (1956); Redmond et al. (1997); De Vos (1990); De Vos, Scheepers (1996)
Мыши		<10–150			1,5 × 10 ⁴			–	
Овцы		100			–			5 × 10 ⁸	
Антилопы		100–250			–			1,7 × 10 ⁷	
Макаки-резусы		3 × 10 ³			–			–	
Кролики		5 × 10 ³			10 ⁵			10 ⁸	
Крысы		10 ⁶			–			–	
Свиньи		10 ⁹			2,7 × 10 ⁷			–	
Собаки		5 × 10 ¹⁰			1,8 × 10 ⁷			–	
Обезьяны	–	–	–	–	4–750 × 10 ³	–	–	–	–
КРС	–	–	–	–	–	–	–	5 × 10 ⁸	–
Лошади	–	–	–	–	–	–	–	5 × 10 ⁸	–

Америке (Канада и США) продолжительное, нередко стационарное неблагополучие с периодическими гиперэнзоотическими проявлениями и постоянным высоким риском для домашнего животноводства и здоровья населения поддерживается главным образом за счет природной очаговости среди диких животных. Особое значение в этом имеют различного рода национальные парки в Субсахарской Африке (Kruger National Park в Южно-Африканской Республике, Etosha National Park и Bwabwata National Park в Намибии, Parc national de Taï в Кот-д'Ивуаре, Little Makololo в Зимбабве и др.), в центре Канады (провинции Альберта, Саскачеван, Манитоба), ранчо и оленьи заповедники на юго-востоке США (штаты Техас, Луизиана) [6, 7, 9]. Стереотипность такой ситуации подтверждается гиперспорадией на севере Российской Федерации в 2016 г. [5]. По мнению авторитетных специалистов, проблема экологии сибирской язвы в естественных условиях (выживаемость спор в почве, в том числе цикл «споруляция → вегетация → респоруляция», их выделение и определение, генотипирование, спонтанное заражение на пастбищах, диагностика в поле) является наиболее приоритетным направлением в изучении сибирской язвы¹ [6, 7, 8, 10].

Общепринято, что восприимчивость к сибирской язве животных каждого вида характеризуется специфическими закономерностями развития септицемии, уровнем токсина в крови, летальности. В определенной степени восприимчивость находит отражение в заражающих дозах, необходимых для воспроизводства сибирской язвы. В таблице обобщены опубликованные данные относительно ЛД₅₀ для разных животных.

Представляют интерес результаты уникальных экспериментов по оценке восприимчивости животных, описанные А. Н. Куличенко и соавт. [4]. При парентеральном заражении 3 коров очень большими дозами

возбудителя (около 10 млрд спор, как минимум 10 ЛД₅₀) в корень языка и дополнительном внутривенном заражении они лишь переболели без летального исхода. У 1 животного из 3 одновременно с течением инфекции возник мастит с выделением в молоке большого количества возбудителя в вегетативной (капсульной, т. е. вирулентной) форме. У 2 остальных в крови возбудитель сохранялся лишь в течение 3 сут, но в кале его обнаруживали до 20 сут. На примере этих 2 коров массивное заражение и переболевание в отсутствие воспалительных осложнений и летального исхода по сути не сопровождались выделением патогена в количествах, обеспечивающих его участие в дальнейшей передаче инфекции и в эпизоотическом процессе. 4-я корова, ранее вакцинированная, зараженная спорами парентерально аналогичным образом и дополнительно подкожным введением бульонной культуры возбудителя, погибла. Высказано мнение, что «течение сибиреязвенной инфекции у животных зависит не только от дозы, но и формы (вегетативная или споровая) сибиреязвенного микроба, попадающего в организм», т. е. решающим явилось заражение вегетативными формами возбудителя. В целом по полученным данным можно судить о сложности процесса заражения и достаточной условности определения ЛД₅₀.

В рамках настоящей работы проведен подробный статистический анализ мировых показателей смертности животных разных видов от сибирской язвы, зарегистрированных в международной базе данных ProMED [12] в период с 2007 по 2017 г. Обязательная летальность заболевания, возбудитель которого ведет паразитоидный образ существования, позволяет считать именно смертность основным признаком эпизоотического процесса сибирской язвы животных.

Сибирская язва установлена у млекопитающих 19 видов. Видовая структура реальной подверженности заражению представлена на рисунке.

В числе жертв сибирской язвы домашние животные практически всех видов – крупный рогатый скот, со-

¹ В отечественной науке это называется природной очаговостью.

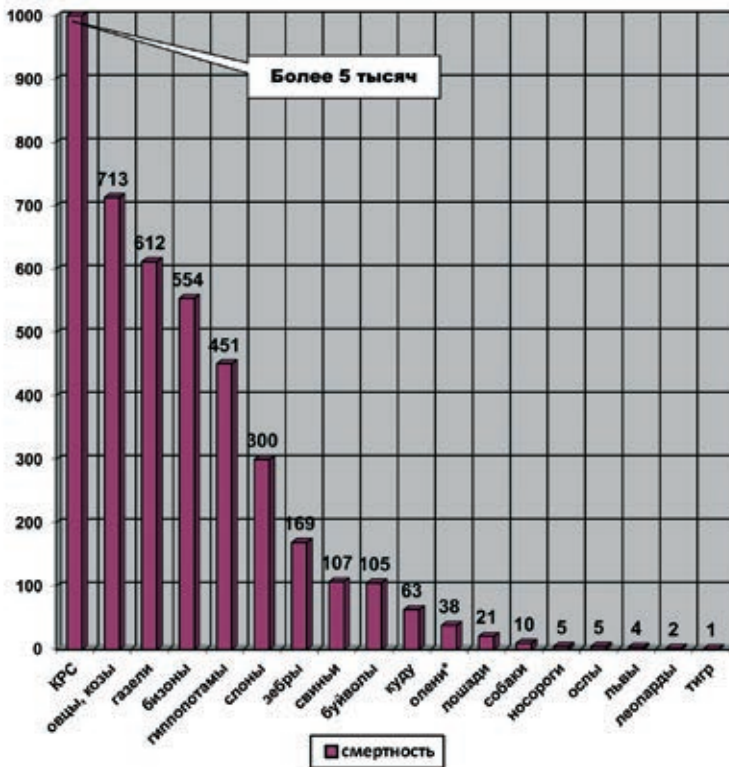


Рис. Смертность животных разных видов от сибирской язвы, зарегистрированная в мире в 2007–2017 гг.

* Без учета падежа 2600 оленей в РФ в 2016 г. [5].

ставляющий абсолютное большинство, что подтверждает ведущую роль этих животных в качестве соактанта и хозяина в глобальной паразитоидной системе, овцы и козы, свиньи, лошади, многие дикие жвачные и травоядные, среди которых преобладают олени, газели, бизоны, гиппопотамы и даже слоны, а также плотоядные и хищники.

Судя по количественной характеристике смертности, в эпизоотическом процессе сохраняется различие роли животных разных видов. В поддержании стационарности природных (почвенных) очагов сибирской язвы наибольшее значение остается за травоядными животными-эндемиками конкретных территорий и зон, обеспечивающими инфекционные циклы и регулярную реконтаминацию почвы как единственного резервуара инфекции.

Подобная полипатогенность отражает преимущественный гостальный состав локальных паразитоидных систем – крупного и мелкого рогатого скота в зонах пастбищного, отгонного, свободного скотоводства (Африка, Азия, Австралия), диких травоядных в Африке и на юге США, бизонов в Канаде, оленей на севере РФ. Заражение лошадиных и особенно хищников имеет поистине спорадический, тупиковый характер, относительно редко и не существенно в эпизоотологии и тем более эпидемиологии сибирской язвы.

Публикация подготовлена при поддержке Программы РУДН «5–100».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, лечебных, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на

предотвращение распространения и ликвидацию очагов сибирской язвы: утв. приказом Минсельхоза России от 14 августа 2017 г. № 403.

2. Макаров В. В., Брико Н. И. Мировой нозоарел сибирской язвы // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2011. – № 2. – С. 13–18.

3. Сибирская язва: актуальные проблемы разработки и внедрения медицинских средств защиты: руководство для врачей / под ред. Г. Г. Онищенко, В. В. Кожухова. – М.: Медицина, 2010. – 422 с.

4. Сибирская язва на Северном Кавказе / А. Н. Куличенко, Н. П. Буравцева, А. Г. Рязанова, Е. И. Еременко; под ред. проф. А. Н. Куличенко. – Майкоп: Качество, 2016. – 198 с.

5. Шестакова И. В. Сибирская язва ошибок не прощает: оценка информации после вспышки на Ямале летом 2016 года // Журнал инфектологии. – 2016. – Т. 8, № 3. – С. 5–27.

6. Anthrax in humans and animals / WHO. – 4th ed. – Geneva, 2008. – 208 p. – URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/97503/9789241547536_eng.pdf (дата обращения: 01.12.18).

7. Anthrax outbreaks: A warning for improved prevention, control and heightened awareness / S. Shadomy, A. El Idrissi, E. Raizman [et al.] // Empres Watch. – 2016. – Vol. 37. – URL: <http://www.fao.org/3/a-i6124e.pdf> (дата обращения: 01.12.18).

8. Anthrax // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). – 5th ed. – Paris: OIE, 2004. – Vol. 1, Chapter 2.2.1. – P. 283–294. – URL: <http://www.oie.int/doc/ged/D6460.PDF> (дата обращения: 01.12.18).

9. Guidelines for the Surveillance and Control of Anthrax in Human and Animals / WHO/EMC/ZDI/98.6. – 3rd ed. – Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1998. – URL: http://www.who.int/csr/resources/publications/anthrax/WHO EMC_ZDI_98_6/en/ (дата обращения: 01.12.18).

10. Hugh-Jones M., Blackburn J. The ecology of *Bacillus anthracis* // Mol. Aspects Med. – 2009. – Vol. 30 (6). – P. 356–367; DOI: 10.1016/j.mam.2009.08.003.

11. Hugh-Jones M., De Vos V. Anthrax and wildlife // Rev. Sci. Tech. OIE. – 2002. – Vol. 21 (2). – P. 359–383.

12. ProMed. International Society for Infectious Diseases. – URL: <http://www.promedmail.org/>.

REFERENCES

1. Veterinary rules for the implementation of preventive, diagnostic, therapeutic, restrictive and other measures, the imposition and lifting of quarantine and other restrictions aimed at preventing the spread and elimination of anthrax foci [Veterinarnye pravila osushchestvleniya profilakticheskikh, diagnosticheskikh, lechebnykh, ogranichitel'nykh i innykh meropriyatiy, ustanovleniya i otmeny karantina i innykh ogranicheniy, napravlennykh na predotvrashchenie rasprostraneniya i likvidatsiyu ochagov sibirskoy yazvy]: approved by Order of the Ministry of Agriculture of Russia No. 403 of August 14, 2017 (in Russian).

2. Makarov V. V., Briko N. I. The worldwide nosoarea of anthrax (Mirovoj nozoareal sibirskoy yazvy). *Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items*. 2011; 2: 13–18 (in Russian).

3. Anthrax: actual problems of the development and implementation of medical protective products: a guide for doctors [Sibirskaya yazva: aktual'nye problemy razrabotki i vnedreniya medicinskih sredstv zashchity: rukovodstvo dlya vrachej]. ed. G. G. Onischenko, V. V. Kozhukhova. M.: Medicine; 2010 (in Russian).

4. Anthrax in the North Caucasus [Sibirskaya yazva na Severnom Kavkaze]. A. N. Kulichenko, N. P. Buravtseva, A. G. Ryzanova, Ye. I. Yeryomenko; ed. professor A. N. Kulichenko. Maikop: Kachestvo, 2016 (in Russian).

5. Shestakova I. V. Anthrax does not forgive mistakes: the information assessment following the Yamal Peninsula outbreak in the summer of 2016 [Sibirskaya yazva oshibok ne proshchaet: ocenka informatsii posle vspyshki na Yamale letom 2016 goda]. *Jurnal Infekologii*. 2016; 8 (3): 5–27 (in Russian).

6. Anthrax in humans and animals. WHO. 4th ed. Geneva, 2008. URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/97503/9789241547536_eng.pdf (access date: 01.12.18).

7. Anthrax outbreaks: A warning for improved prevention, control and heightened awareness. S. Shadomy, A. El Idrissi, E. Raizman [et al.]. *Empres Watch*. 2016; 37. URL: <http://www.fao.org/3/a-i6124e.pdf> (access date: 01.12.18).

8. Anthrax. OIE. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees)*. 5th ed. Paris: OIE, 2004; 1 (Chap. 2.2.1.): 283–294. URL: <http://www.oie.int/doc/ged/D6460.PDF> (access date: 01.12.18).

9. *Guidelines for the Surveillance and Control of Anthrax in Human and Animals*. WHO/EMC/ZDI/98.6. 3rd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1998. URL: http://www.who.int/csr/resources/publications/anthrax/WHO EMC_ZDI_98_6/en/ (access date: 01.12.18).

10. Hugh-Jones M., Blackburn J. The ecology of *Bacillus anthracis*. *Mol. Aspects Med*. 2009; 30(6): 356–367; DOI: 10.1016/j.mam.2009.08.003.

11. Hugh-Jones M., De Vos V. Anthrax and wildlife. *Rev. Sci. Tech. OIE*. 2002; 21 (2): 359–383.

12. ProMed. International Society for Infectious Diseases. URL: <http://www.promedmail.org/>.

Поступила 20.11.18

Принята в печать 29.11.18

КАДРОВЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ГОСУДАРСТВЕННОЙ ВЕТЕРИНАРНОЙ СЛУЖБЫ СУБЪЕКТОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

М. А. Шибаяев¹, И. М. Клиновикская², А. С. Оганесян³, А. В. Бельчихина⁴, А. К. Караулов⁵

¹ Заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shibaev@arriah.ru

² Старший научный сотрудник, кандидат экономических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: klinovitskaya@arriah.ru

³ Заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: oganesyan@arriah.ru

⁴ Младший научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: belchihina@arriah.ru

⁵ Руководитель ИАЦ, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: karaulov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты анализа основных количественных характеристик кадровых ресурсов государственной ветеринарной службы Российской Федерации по состоянию на 2017 г. Анализ проведен как в целом по ветеринарной службе субъектов страны, так и по ее отдельным организационным уровням: региональному, локальному, лабораторно-диагностическому и по подразделениям, осуществляющим региональный государственный ветеринарный надзор. Обсуждены данные о существующем количестве ветеринарных специалистов, а также об укомплектованности учреждений ветеринарии в субъектах страны. Эти данные свидетельствуют, что число ветспециалистов соотносится с численностью населения и поголовьем животных, а также с числом муниципальных образований и объемом произведенной в субъекте продукции животноводства. Несмотря на разноплановые особенности регионов РФ, в большинстве из них отмечается фактический дефицит ветеринарных специалистов в учреждениях локального и лабораторного уровней. На 2017 г. средний возраст ветеринарных специалистов в РФ составил 40–45 лет. Анализ средней заработной платы в РФ показал, что у ветспециалистов локального и лабораторного уровней она составляет около 24 тыс. руб. в мес, что ниже среднего уровня по России на 30% и практически в 2 раза ниже, чем у ветспециалистов регионального уровня и государственных ветеринарных инспекторов. Результаты исследования свидетельствуют о достаточно высокой численности (порядка 72%) ветеринарных специалистов с высшим профессиональным образованием в учреждениях субъектов РФ, при этом отмечается недостаточный охват ветеринарного персонала программами повышения квалификации.

Ключевые слова: ветеринарный специалист, ветеринарная служба, организационные уровни ветеринарной службы, учреждения государственной ветеринарной службы, образование, оплата труда, кадровая укомплектованность, возраст ветеринарных специалистов.

UDC 619:331.108.2

HUMAN RESOURCES CAPACITY OF NATIONAL VETERINARY SERVICES IN RUSSIAN FEDERATION TERRITORIAL SUBJECTS

M. A. Shibayev¹, I. M. Klinovitskaya², A. S. Oganessian³, A. V. Belchikhina⁴, A. K. Karaulov⁵

¹ Head of Sector, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shibaev@arriah.ru

² Senior Researcher, Candidate of Sciences (Economics), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: klinovitskaya@arriah.ru

³ Head of Sector, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: oganesyan@arriah.ru

⁴ Junior Researcher, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: belchihina@arriah.ru

⁵ Head of IAC, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: karaulov@arriah.ru

SUMMARY

The paper presents the analysis results of basic quantitative characteristics of national veterinary service human resources as at 2017. The analysis was made both in general for the subject veterinary services and for their separate organizational levels: regional, local, laboratory as well as for the units, involved into the state veterinary surveillance on the regional level. The data about available number of veterinarians and staffing levels of veterinary institutions in the territorial subjects are discussed. These data suggest that the number of veterinarians correlates with the human and animal populations, as well as with the number of municipal entities and the volumes of livestock products manufactured. Notwithstanding the diverse peculiarities of the RF regions, the majority of them suffer from an actual deficit of veterinarians in the local and laboratory institutions. As of 2017, the average age of veterinarians in the RF is 40–45. The analysis of the RF average salaries showed that veterinarians of local and laboratory levels earn about 24 thousand rubles per month, which is 30% lower than the average level in Russia and almost twice lower than the salaries of regional veterinarians and official veterinary inspectors. The study results are also indicative of a sufficiently high number (about 72%) of veterinarians with a higher vocational education in RF Subject institutions, but at the same time not all of them are covered by advanced training programs.

Key words: veterinarian, veterinary service, veterinary service organizational levels, veterinary service institutions, education, salary, staffing, age of veterinarians.

ВВЕДЕНИЕ

Эффективное и качественное функционирование системы ветеринарной службы складывается из материально-технической оснащенности, адекватной организационной структуры, гармонизированной регламентирующей и законодательной базы. Особое значение имеет научный потенциал сферы, а также обеспеченность ветеринарной службы высококвалифицированными кадрами. Кадровый потенциал государственной ветеринарной службы Российской Федерации – это хорошо подготовленные трудовые ресурсы российского общества, способные участвовать в профессиональных видах трудовой деятельности и успешно выполнять поставленные перед ними задачи. Конечной целью функционирования ветеринарных кадров является предупреждение болезней животных, выпуск полноценных и безопасных в ветеринарном отношении продуктов животноводства и защита населения от болезней, общих для человека и животных. Именно кадры на всех уровнях своей деятельности обеспечивают основные принципы качественной работы ветеринарной службы, такие как компетентность, независимость, непредвзятость, неподкупность, объективность и др. Поэтому согласно рекомендации МЭБ оценка людских ресурсов является одним из ключевых элементов при мониторинге качества деятельности ветеринарных служб [1, 15, 16].

В комплексе мер по обеспечению ветеринарной службы РФ квалифицированными специалистами в первую очередь необходим анализ кадрового состава на различных уровнях, включающий векторную направленность в изменении численности работников, их материальную обеспеченность, соотношение между отдельными категориями, уровнем образования, возрастом. Наличие данных по указанным параметрам будет являться основной информационной базой для решения целого ряда управленческих задач, поскольку универсальный принцип управления заключается в следующем: «Любые изменения следует осуществлять на основе оценки текущей ситуации».

На сегодня официальная и доступная информация по кадровым ресурсам российской ветеринарии носит фрагментарный и во многом ограниченный характер, что не может объективно отразить сложившейся на настоящий момент в субъектах страны реальной картины. В связи с этим целью исследования явился сбор информации по ключевым показателям и проведение комплексной аналитической оценки кадрового потенциала ветеринарной службы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения анализа кадрового потенциала как страны в целом, так и отдельных ее регионов специалисты ФГБУ «ВНИИЗЖ» разработали форму для сбора первичных данных. Эта форма включала в себя такие показатели, как численность ветеринарных специалистов, полнота укомплектованности подразделений кадрами, возраст и образование работников, уровень оплаты труда. В 2017 г. был организован единовременный сбор информации по указанной форме от органов исполнительной власти 84 субъектов РФ (за исключением Республики Крым) по следующим уровням организации ветеринарной службы:

- *региональный уровень* – органы исполнительной власти субъекта РФ в области ветеринарии без подведомственных учреждений (департаменты, комитеты, управления и т. д.);
- *локальный уровень* – учреждения, подведомственные органам исполнительной власти (СББЖ, ветеринарные пункты, ветеринарные участки и т. д.);
- *лабораторно-диагностический уровень* – ветеринарно-диагностические лаборатории различного уровня (областные, районные, межрайонные и т. д.);
- *подразделения регветнадзора* – сотрудники (инспекторы), осуществляющие региональный государственный ветеринарный надзор.

При проведении анализа использовали также официальные данные Федеральной службы государственной статистики по состоянию на 2017 г. [10].

Данные анализировали общепринятыми методами: обобщения и формализации информации, сравнительного анализа, описательной статистики и корреляционного анализа. Обработка поступившей информации проводилась с использованием программного пакета для статистического анализа данных STATISTICA 10.0 (StatSoft, Inc.).

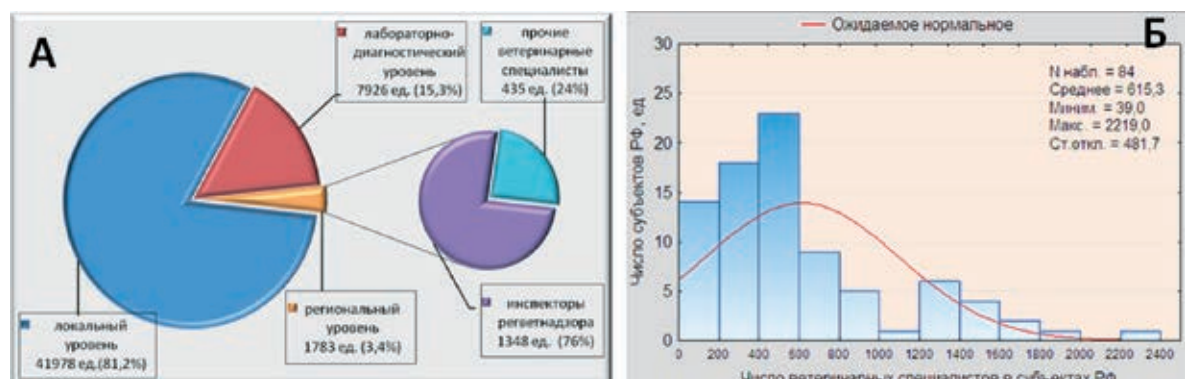
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам валидации собранных данных проведен анализ по основным параметрам, отражающим уровень оснащенности ветеринарной службы квалифицированными кадрами.

Общая численность ветеринарных специалистов и укомплектованность ими. По состоянию на октябрь 2017 г. в государственной ветеринарной службе субъектов РФ зарегистрировано 51 688 ветеринарных специалистов (рис. 1).

Из данных, представленных на рис. 1А, видно, что основная масса – 81,2% от общего числа ветеринарных

Рис. 1. Количество ветеринарных специалистов в субъектах РФ



работников – представлена специалистами локального уровня. Также довольно обширным штатом – 7926 (15,3%) ветспециалистов – представлено лабораторно-диагностическое звено ветеринарной службы. Что же касается регионального уровня, т. е. управленческого звена ветеринарной службы субъектов страны, то из 1783 ветспециалистов подавляющее большинство – это инспекторы, осуществляющие региональный государственный ветеринарный надзор (1348 штатных единиц).

По данным, полученным от органов исполнительной власти на местах, ветеринарные службы субъектов страны значительно различаются по числу специалистов – от 39 до 2219 штатных единиц. При этом наименьший численный состав (до 100 штатных единиц) характерен для ветеринарных служб Дальневосточного федерального округа. Наибольшее количество ветеринарных специалистов зарегистрировано в таких субъектах страны с развитым животноводством, как республики Дагестан и Башкортостан, Ставропольский, Алтайский и Краснодарский края, Ростовская область и др. Также выявлено, что в большей части субъектов страны (63 региона) число ветспециалистов составляет до 800 штатных единиц, при этом в 41 из этих субъектов эта величина варьирует в пределах от 200 до 600 специалистов.

Анализ количества ветспециалистов с учетом особенностей регионов России позволяет сделать вывод о том, что число таких кадров в субъектах страны находится в довольно выраженной зависимости от:

- численности населения в субъекте ($r = 0,67$);
- числа муниципальных образований ($r = 0,78$);
- числа административных районов ($r = 0,78$);
- поголовья животных ($r = 0,7$);
- объема произведенной в субъекте продукции животноводства в хозяйствах всех категорий ($r = 0,68$), где r – коэффициент корреляции при $p < 0,05$.

В этой связи можно утверждать, что при расчете потребности субъекта РФ в ветеринарных специалистах в большей степени необходимо учитывать данные, определяющие факторы регионов.

Анализ нагрузки на одного ветеринарного специалиста локального уровня (как наиболее значимого в данном случае) показал, что в 72,5% субъектов страны на одного ветеринара приходится от 1 до 3 муниципальных образований, а в среднем по стране (независимо от географического расположения региона) это число составило 2,1 муниципального образования.

Анализ площади территории субъекта страны и показателя плотности муниципальных образований

субъекта не выявил значимой связи с числом ветспециалистов на всех организационных уровнях. Кроме того, результаты ранее проведенного исследования также указывали на то, что планирование штатной численности государственных ветеринарных инспекторов в регионах происходит без учета такой важной составляющей, как число поднадзорных объектов на обслуживаемой территории [8].

Далее провели анализ по показателю укомплектованности ветеринарной службы специалистами. Данный показатель представляет собой отношение штатных и занятых должностей в процентном выражении. Его рассчитали как в целом по ветеринарной службе страны, так и для отдельных ее организационных уровней. Полученные результаты свидетельствуют о том, что численность ветеринарных работников на всех организационных уровнях находится в пределах 90%. Более того, анализ корреляций показал, что укомплектованность кадрами не связана ни с величиной заработной платы ветеринарных специалистов в регионе, ни с их рабочей нагрузкой (складывающейся из количества обслуживаемых муниципальных образований и количества животных в них), ни с площадью региона и плотностью муниципальных образований.

Важно отметить, что во многих субъектах РФ периодически происходит оптимизация организационной структуры ветеринарной службы с сокращением рабочих мест. Результатом подобного рода оптимизаций является то, что формально высокие показатели штатной укомплектованности не в полной мере отражают фактическую картину обеспеченности кадрами. В этой связи проведен анализ ситуации в субъектах РФ по фактической дополнительной (к имеющемуся количеству) потребности региона в ветеринарных специалистах на основании предложений региональных ветеринарных служб, полученных в ходе сбора информации (табл.).

Из таблицы видно, что:

– лишь 7 субъектов страны (8,3%) не испытывают потребности в ветспециалистах локального уровня, основной же массе (91,7%) субъектов необходимы дополнительные работники. Однако потребность в штатных единицах для большей части субъектов страны не является критичной и составляет до 20% от фактической численности. Подобная ситуация характерна и для лабораторно-диагностического уровня – 67 субъектам требуются дополнительные кадры;

– в 40 субъектах страны (47,6%) не выявлена потребность в ветспециалистах, осуществляющих регио-

Таблица
Фактическая потребность в ветеринарных специалистах

Организационный уровень ветеринарной службы	Уровень потребности в ветспециалистах (дополнительно к фактически имеющемуся)					
	не требуется	до 10%	10–20%	20–40%	40–60%	более 60%
	Количество субъектов РФ					
Региональный	33	16	11	6	4	14
Локальный	7	34	31	8	2	2
Лабораторный	17	31	19	10	3	4
Подразделение регветнадзора	40	15	7	6	3	13

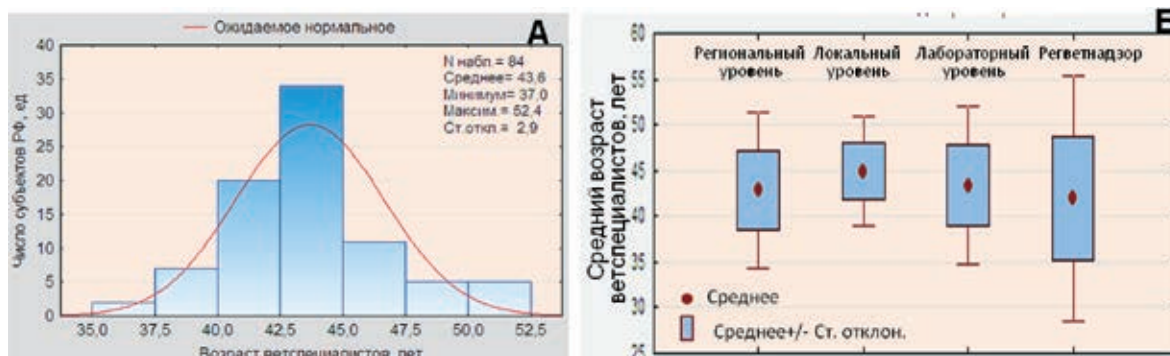


Рис. 2. Распределение ветспециалистов по возрастному показателю

нальный ветеринарный надзор, а для 15 субъектов рассматриваемая потребность составляет до 10% от имеющегося числа. При этом 13 субъектов страны испытывают острую нехватку в рассматриваемом типе специалистов – требуется увеличение штата от 2 до 7 раз от фактически имеющегося. Такие субъекты представлены почти во всех федеральных округах страны, однако наибольшая их концентрация отмечается в Северо-Кавказском федеральном округе;

– существующая на региональном уровне потребность в ветспециалистах сформирована в связи с нехваткой кадров в подразделениях регветнадзора (см. рис. 1).

Общая дополнительная потребность ветеринарной службы страны в специалистах составляет 6293 штатные единицы, из них на региональном уровне требуется 379, на локальном – 4959, на лабораторном – 939, по подразделениям регветнадзора – 298 человек.

Важно отметить, что обоснованность предоставленных регионами данных о дополнительной потребности в ветеринарных специалистах в настоящем исследовании не оценивалась. В действительности заявленная регионами потребность может отличаться от фактической ситуации на местах. Дело в том, что, согласно данным проведенного опроса, лишь в немногих регионах страны разработан и введен в действие документально оформленный порядок нормирования труда, на основании которого определяется потребность службы в ветеринарных специалистах. В большинстве же субъектов страны планирование штатной численности персонала осуществляется либо согласно исторически сложившейся структуре и штату ветслужбы субъекта, либо спонтанно, в отрыве от реалий настоящего времени и достижений научно-технического прогресса. Естественно, такой подход приводит к смещению показателей потребности. Причем данное смещение может иметь как положительную, так и отрицательную направленность, приводя как к нехватке специалистов, так и к их избытку, что в любом случае ведет к нерациональному использованию трудовых ресурсов и, как следствие, – к дисбалансу в деятельности ветеринарной службы региона.

В связи с этим управленческому звену региональных ветеринарных служб необходимо уделять более пристальное внимание проблеме анализа эффективности использования трудовых ресурсов, который требует определения и внедрения норм труда и систематической оценки их выполнения, а также перио-

дического пересмотра норм с учетом технических, экономических, организационных, социальных и других факторов. Наряду с этим стоит особенно обратить внимание на то, что основная задача нормирования труда состоит в том, чтобы обосновать необходимую и достаточную величину затрат рабочего времени на выполнение какого-либо процесса в конкретных условиях. Иными словами, не должно вызывать сомнений то, что нормы труда должны быть определены ветеринарной службой каждого отдельно взятого субъекта страны, поскольку деятельность ветеринарных специалистов различных регионов зависит от природно-климатических условий, особенностей ведения животноводства, распределения и плотности сельскохозяйственных поднадзорных объектов, транспортной доступности, технических возможностей лабораторно-диагностической базы, социальных факторов и т. п. В современных условиях нормы труда для ветеринарных специалистов не могут и не должны быть однотипными и унифицированными для всех регионов или их групп. Приведенные в специализированных справочных материалах усредненные нормы можно использовать как ориентир для собственных разработок в каждом конкретном регионе страны [2, 3, 12]. По нашему мнению, наиболее конструктивным решением данной проблемы будет являться проведение ветеринарной службой каждого региона страны нормирования труда с привлечением специалистов и соответствующих методов исследования и формированием досье – доказательной, документально оформленной базы, аргументирующей потребность в конкретных специалистах.

Возрастной состав ветеринарных специалистов и кадровая политика. Важной составляющей анализа трудовых ресурсов является изучение возрастной структуры персонала. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что средний возраст ветеринарных специалистов 64% субъектов РФ составляет 40–45 лет. Причем подобная картина характерна для всех организационных уровней ветеринарной службы (рис. 2А).

Как видно из данных, представленных на рис. 2Б, наиболее широкий диапазон колебаний среднего возраста большей части ветспециалистов (от 35 до 49 лет при среднем значении 42 ± 7) отмечается среди сотрудников, осуществляющих региональный государственный ветнадзор. Лишь в 26 субъектах средний возраст специалистов уровня регветнадзора составляет 30–40 лет (при среднем значении 35 ± 5). Подобная ситуация наблюдается и на региональном уровне, однако отклонения здесь несколько ниже.

Другая ситуация отмечается на локальном уровне – средний возраст специалистов варьирует в меньшем диапазоне и составляет для 50 субъектов страны 40–45 лет, а для 23 регионов – в пределах 45–50 лет. Выявлены лишь единичные регионы, в которых средний возраст кадрового состава – 30–40 лет.

На уровне лабораторно-диагностического звена средний возраст работников половины субъектов страны составил 40–45 лет. Оставшиеся регионы распределились практически поровну в 2 группы, значении внутри которых составило 35–40 лет и 45–50 лет.

В целом при довольно сходных средних значениях по всем уровням организации ветеринарной службы отмечается тот факт, что на локальном уровне зафиксировано наибольшее число регионов, где средний возраст специалистов составляет 45–50 лет, и минимальное число субъектов, где средний возраст ветеринарных кадров – 30–40 лет.

Доля ветспециалистов пенсионного возраста (для мужчин старше 60 и женщин старше 55 лет) в среднем по стране составляет 22%. На локальном и лабораторном уровнях данный показатель также оказался равен 22–23% от общего числа ветеринарных кадров. Однако на региональном уровне и уровне регветнадзора доля персонала пенсионного возраста в 2 раза ниже, чем в среднем по стране. В свою очередь, региональный уровень можно разделить на 2 большие группы по данному показателю: в первой (31 субъект) доля рассматриваемых специалистов варьирует в пределах 10–20%, во второй (40 субъектов) – 20–30%. Кроме того, выявлено 10 субъектов, в государственных ветеринарных учреждениях которых доля специалистов этого возраста находится в пределах 30–40% (рис. 3А).

Для сравнения можно отметить, что возрастной профиль ветеринарных специалистов в европейских странах смещается в сторону омоложения с пиком в возрасте от 30 до 34 лет. Так, 44% европейских ветспециалистов находятся в возрасте до 40 лет, 24% – в возрасте около 40 лет, а 32% – в возрасте от 50 лет и старше [14].

За последние 5 лет доля трудоустроившихся в учреждения ветеринарной службы молодых специалистов (до 35 лет) в большинстве регионов страны составила от 10 до 30% (рис. 3Б). В числовом отношении

из 10 107 трудоустроившихся молодых специалистов 7863 пришли работать в учреждения локального уровня. Однако их доля на этом уровне (от общего числа ветспециалистов) остается наиболее низкой – порядка 19%. Среднее количество молодых специалистов регионального уровня и уровня регветнадзора колеблется в пределах 23–25%, однако в 12 субъектах страны на региональном уровне и 16 на уровне регветнадзора за последние 5 лет омоложения кадров не происходило. Что касается территориальной приуроченности данного показателя, то следует отметить, что процесс привлечения молодых специалистов в учреждения локального уровня наименее выражен в субъектах Северо-Кавказского ФО (в среднем 11%).

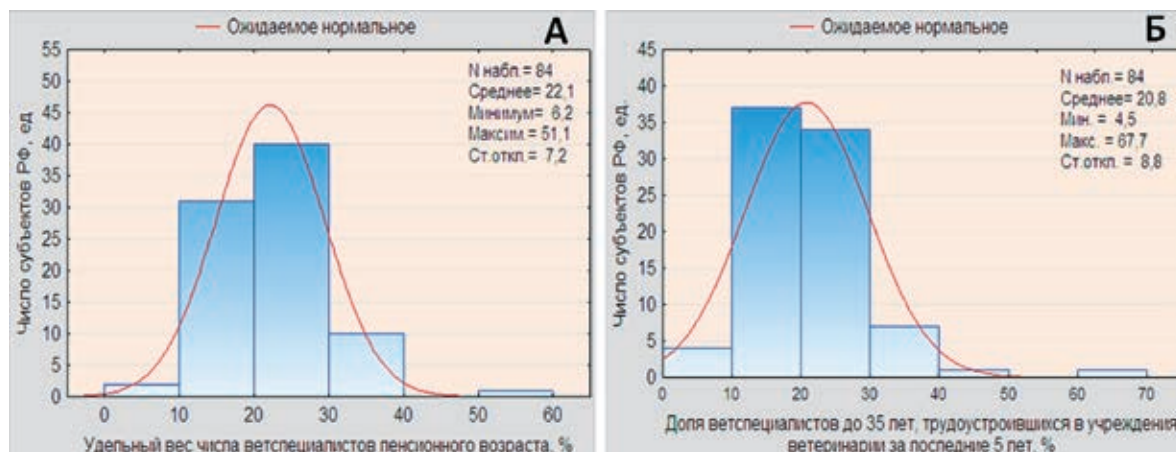
Стоит также отметить, что в ходе данного исследования не удалось установить достоверную связь между активностью омоложения кадрового состава в учреждениях ветеринарии субъектов страны с такими, казалось бы, определяющими факторами, как уровень заработной платы как в отрасли, так и в РФ в целом, а также уровень нагрузки на ветспециалиста. Возможными причинами неактивного притока молодых кадров в ветеринарию могут служить недостаточно эффективные системы материальной и социальной защиты специалистов в сельской местности, отсутствие жилья для молодежи, низкий уровень качества жизни. Исходя из этого можно предположить, что недостаточность системы социальной и материальной защиты молодых специалистов, особенно в сельской местности, не может в полной мере быть скомпенсирована только за счет увеличения оплаты труда.

Не выявлено также связи между притоком молодых кадров в отрасль с наличием в субъектах региональных/ведомственных социальных программ. Такие программы разработаны и введены в действие лишь в 13 субъектах страны, в большей степени в регионах Сибири и Дальнего Востока. Ни в одном из субъектов Центрального и Южного ФО подобные программы официально не утверждены.

Оплата труда ветеринарных специалистов.

Заработная плата является важнейшим фактором, мотивирующим работника к производительному труду, а также фактором, способным оказывать влияние на имидж профессии и приток молодых кадров. В данном исследовании проведена оценка уровня заработной платы ветеринарных специалистов по регионам страны, по организационным уровням ветеринарной

Рис. 3. Возрастной состав сотрудников учреждений ветеринарии субъектов РФ



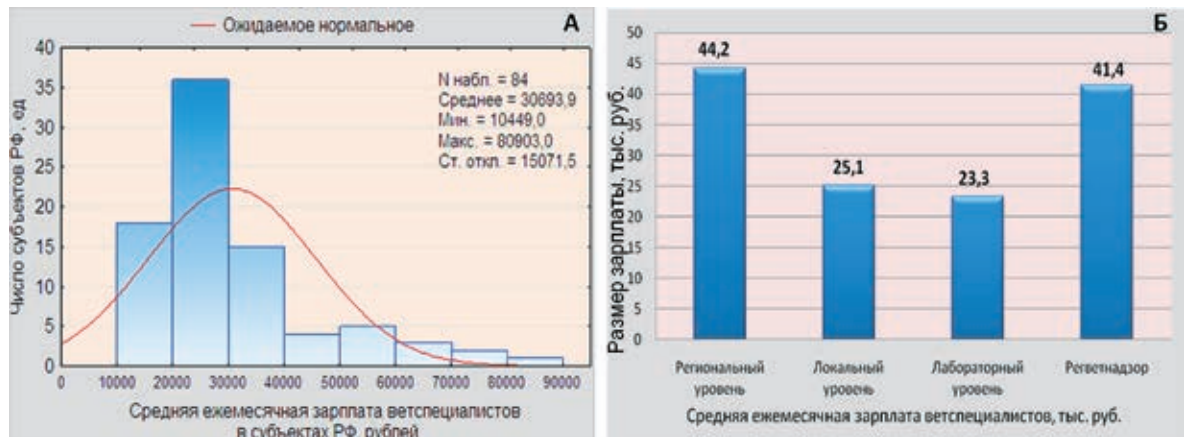


Рис. 4. Размер среднемесячной зарплаты ветеринарных специалистов в РФ

службы, а также по сравнению со средней заработной платой в субъектах РФ по состоянию на сентябрь 2017 г. (рис. 4–5).

Как видно из представленных на рис. 4А данных, размер среднемесячной заработной платы ветеринарных специалистов учреждений государственной ветеринарной службы в субъектах страны варьирует в довольно широком диапазоне – от 10,4 до 80,9 тыс. руб. (при среднем значении 30,6 тыс. руб.). Однако во многих регионах (36 субъектов) зарплата ветспециалистов не достигает среднего значения и составляет 20–30 тыс. руб., а в 17 регионах – менее 20 тыс. руб. Что же касается территориальной приуроченности, то наблюдается довольно разнородная ситуация между субъектами страны. В отношении Северо-Кавказского ФО можно отметить, что во всех субъектах округа размер заработной платы ветспециалистов ниже среднего значения по стране. Напротив, значения рассматриваемого показателя, существенно превышающие средние показатели по стране, характерны для мегаполисов, таких как Москва и Санкт-Петербург, а также для дальневосточных и северных регионов страны, что, очевидно, связано с применением районных коэффициентов и процентных надбавок к заработной плате граждан, проживающих в районах Крайнего Севера и в приравненных к ним местностях.

Ситуация по оплате труда ветспециалистов, осуществляющих свою профессиональную деятельность на различных уровнях организации ветеринарной службы, также неоднородна (рис. 4Б):

– *региональный уровень* – размер средней заработной платы по субъектам колеблется от 8 до 108 тыс. руб. и в среднем по стране составляет 44,2 тыс. руб. В трети регионов средние значения находятся в пределах 30–40 тыс. руб., в 13 регионах – 20–30 тыс. руб., еще в 15 регионах – свыше 40 тыс. руб.;

– *локальный уровень* – среднее значение оплаты труда ветеринарных специалистов – 25,1 тыс. руб. – практически в 2 раза ниже, чем у специалистов регионального уровня, и варьирует в диапазоне от 9,9 до 70,7 тыс. руб. по субъектам РФ. В половине субъектов зарплата составляет 10–20 тыс. руб., в трети – 20–30 тыс. руб. Подобная картина характерна и для лабораторного уровня, среднее значение заработной платы на котором находится на уровне 23,3 тыс. руб.;

– *уровень регветнадзора* – при среднем показателе в 41,4 тыс. руб. ситуация в значительной степени повторяет ситуацию на региональном уровне, но при этом минимальная средняя ежемесячная зарплата государственных инспекторов, осуществляющих региональный ветеринарный надзор, составила 16,6 тыс. руб.

В качестве дополнительной информации, позволяющей оценить уровень заработной платы ветеринарных специалистов в субъектах страны, можно привести следующие данные:

– согласно официальным данным, в целом по РФ в организациях государственной и муниципальной форм собственности по итогам 2017 г. средняя заработная плата врачей и работников медицинских организаций, имеющих высшее медицинское (фармацевтическое) образование, составила 56,4 тыс. руб., среднего медицинского (фармацевтического) персонала – 30,2 тыс. руб.;

– согласно исследованию, проведенному Федерацией ветеринаров Европы (The Federation of Veterinarians of Europe, FVE), в 2016 г. средняя заработная плата ветеринарного специалиста на государственной службе в странах Европы составляла 3,7 тыс. евро в мес (44 тыс. евро в год, данные скорректированы с учетом паритета покупательной способности и приводятся до налогообложения) [14];

– согласно информации, размещенной на официальном сайте Россельхознадзора, средняя заработная плата специалистов территориальных управлений Россельхознадзора по итогам 2017 г. составила 38,6 тыс. руб. в мес [11].

Дополнительно провели анализ по соотношению средней зарплаты ветспециалистов в субъектах РФ к среднемесячной номинальной начисленной зарплате работников по полному кругу организаций по субъектам РФ (за 9 мес 2017 г.) (рис. 5).

Результаты проведенного анализа позволяют сделать вывод, что уровень заработной платы ветспециалистов в большинстве регионов страны (56 субъектов) не достигает уровня среднемесячной номинальной начисленной заработной платы в субъекте. В трети регионов страны значение по данному показателю находится в пределах 60–80% и лишь в 23 субъектах – 80–98%. При этом самые низкие средние значения рассматриваемого соотношения показаны для субъектов Северо-Кавказского, Приволжского и Сибирского ФО. Напротив, лидером в данном отношении (как в целом по ветеринарной службе, так и по всем

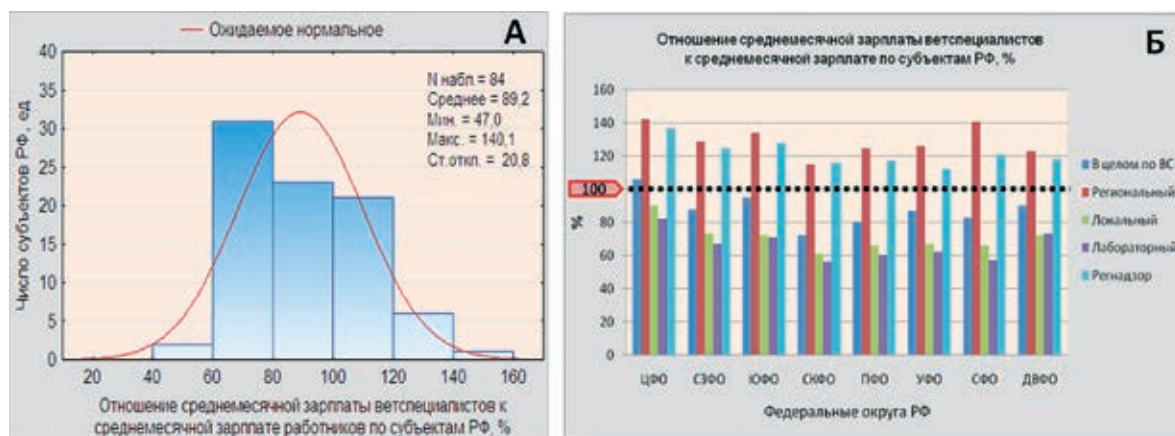


Рис. 5. Отношение среднемесячной зарплаты ветеринарных специалистов к среднемесячной зарплате по регионам РФ

организационным уровням) является Центральный ФО, в большинстве субъектов которого оплата труда ветспециалистов превышает среднюю зарплату по регионам (рис. 5Б).

Что касается сложившейся ситуации по данному показателю на различных уровнях организации ветеринарной службы, то в регионах страны она выглядит относительно однородной (рис. 5Б). Средние значения по рассматриваемому показателю свидетельствуют о том, что в субъектах всех федеральных округов страны зарплата ветспециалистов выше средней по региону только на региональном уровне и на уровне регветнадзора и составляет в среднем 131% и 123% соответственно. Менее оптимистичной выглядит картина на локальном и лабораторном уровнях, на которых зарплата ветспециалистов по всей стране значительно уступает среднему размеру оплаты труда в регионах – в среднем на 30% меньше. Как и в общем по ветслужбе, наибольшее отставание отмечается в субъектах Северо-Кавказского ФО. Это при том, что, согласно данным Федеральной службы государственной статистики, в субъектах данного округа в 2017 г. зарегистрированы самые низкие показатели среднемесячной заработной платы работников.

Уровень образования ветеринарных специалистов. Согласно положениям закона «О ветеринарии» одной из задач отрасли является подготовка специалистов в соответствующей области. Право на занятие ветеринарной деятельностью имеют специалисты с высшим или средним ветеринарным образованием [4].

В целом по стране около 72% ветеринарных специалистов субъектов РФ имеют соответствующее высшее образование. При этом более чем в половине субъектов страны значение по данному показателю варьирует в пределах от 60 до 80% (рис. 6А). Вместе с тем в некоторых регионах страны, главным образом на локальном и лабораторно-диагностическом уровнях, удельный вес ветспециалистов с высшим образованием менее 50%. То есть, скорее всего, в данных субъектах существует потенциальный дефицит высококвалифицированных кадров.

Доля специалистов с высшим ветеринарным образованием достигает максимума на региональном уровне – 99,7%. То есть можно утверждать, что с точки зрения качества управленческое звено региональных ветери-

нарных служб в достаточной степени укомплектовано высококвалифицированным персоналом (рис. 6Б).

Такая же ситуация сложилась и с уровнем образования сотрудников, осуществляющих госветнадзор (99,7%), что закономерно, поскольку штат ветеринарных специалистов органа управления ветеринарии в большей степени представлен именно сотрудниками данного подразделения.

Иная ситуация на локальном уровне, где удельный вес числа специалистов с высшим образованием составил 70% от общего числа ветеринарных кадров. При этом в большей части регионов (49 субъектов) удельный вес специалистов с высшим ветеринарным образованием колеблется в диапазоне 60–80% и только в 2 субъектах составляет порядка 30% (рис. 6Б). Как видно из рисунка 6Б, ситуация на локальном уровне повторяет ситуацию в целом по стране, то есть оказывает прямое влияние на общий показатель ввиду того, что основную массу ветеринарных специалистов представляют специалисты именно локального уровня. Вполне очевидно, что для улучшения ситуации по рассматриваемому показателю коррекционные меры должны быть направлены в первую очередь на локальный уровень ветеринарной службы. Более того, проведенный корреляционный анализ выявил некоторую статистическую зависимость между удельным весом численности ветспециалистов с высшим ветеринарным образованием на локальном и лабораторном уровнях в субъектах ($r = 0,46$ при $p < 0,05$). Данный факт указывает на то, что определенный уровень образования специалистов, скорее всего, будет способствовать возникновению одинаковых тенденций в регионе на этих уровнях – либо к увеличению, либо к уменьшению доли специалистов с высшим образованием.

Что же касается лабораторно-диагностического уровня, то здесь наблюдается ситуация, сходная с локальным уровнем: число ветеринарных специалистов, имеющих высшее образование, составило 74%. Вместе с тем можно отметить, что лишь в трети регионов страны лабораторно-диагностические учреждения ветеринарной сети укомплектованы на достаточно высоком уровне специалистами с высшим ветеринарным образованием (80–100%).

Результаты исследования демонстрируют относительно высокие значения показателя уровня образования специалистов ветеринарной службы. Однако наличие у работника документа, подтверждающего его высшее ветеринарное образование, не всегда под-

тверждает высокий уровень компетенции в профессиональной сфере. К сожалению, в ветеринарном профессиональном сообществе страны с каждым годом все острее встает вопрос о разрыве между знаниями, получаемыми в вузах, и навыками, необходимыми для реальной работы.

По нашему мнению, наиболее объективным способом определения уровня компетенции ветеринарного специалиста и соответствия его квалификации требованиям профессионального стандарта, а также определения возможности допуска к самостоятельной профессиональной деятельности может служить внедрение в нашей стране процедуры аккредитации специалиста с оценкой как его теоретических знаний, так и практических навыков. При этом процедура аккредитации должна быть нескольких видов:

- первичная аккредитация – проводится непосредственно после освоения основной образовательной программы высшего ветеринарного образования;
- компетентностная аккредитация – проводится после получения новой компетенции в рамках своей квалификации (специальности);
- периодическая аккредитация – проводится в течение всей профессиональной деятельности после очередного освоения учебного плана дополнительного профессионального образования (повышения квалификации).

Наряду с государством важная роль в оценке профессиональных компетенций ветеринарных специалистов может быть отведена профессиональному сообществу. По нашему мнению, данный контроль может быть реализован путем создания в стране так называемого статутарного (лицензирующего) ветеринарного органа, независимого от коммерческих интересов и неангажированного. Вместе с тем, согласно рекомендациям, изложенным в Кодексе здоровья наземных животных МЭБ, политика и задачи данного лицензирующего ветеринарного органа, в том числе полномочия и функции, должны быть определены и законодательно утверждены на уровне национального законодательства [1, 17].

Система повышения квалификации ветеринарных специалистов. Одной из важных качественных характеристик трудовых ресурсов является способность поддерживать и повышать уровень компетентности в условиях постоянно меняющихся задач как на национальном, так и на международном уровне. Это достигается при условии наличия у ветеринарной

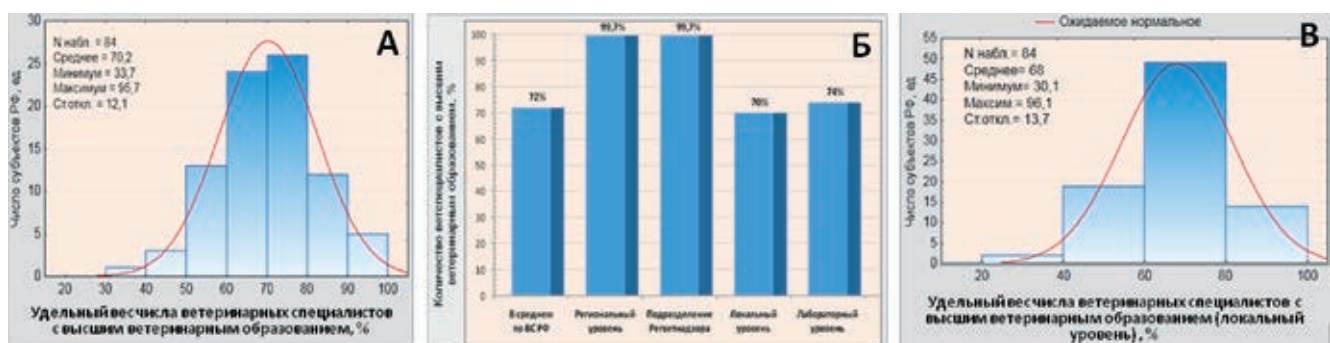
службы программ повышения квалификации и участия ветеринарных специалистов в данных программах.

В настоящее время в соответствии с законодательством повышение квалификации для большей части ветеринарных специалистов не носит обязательного характера. Исключение составляют только работники, занятые в сфере обращения лекарственных средств для ветеринарного применения, а также государственные гражданские служащие, для которых определены порядок, сроки и программы повышения квалификации [5, 6, 7]. Остальная же часть персонала ветеринарной службы повышает квалификацию по усмотрению работодателя в зависимости от нужд учреждения. Вследствие этого учреждения ветеринарной сети регионов РФ имеют различные значения по рассматриваемому показателю. Тем не менее можно предположить, что за последние 5 лет программами повышения квалификации так или иначе был охвачен весь персонал ветеринарной службы.

Как показывают результаты анализа (рис. 7), в большей части субъектов страны (73%) за последний 5-летний период программами повышения квалификации было охвачено от 30 до 80% ветеринарных специалистов. Лишь в единичных регионах данный показатель составил 95–100%. В среднем за указанный интервал времени только чуть более половины (59%) персонала ветеринарной службы страны повысило свою квалификацию. При этом удельный вес численности ветеринарных специалистов, прошедших повышение квалификации на разных уровнях организации ветеринарной службы, носит относительно однородный характер и колеблется в пределах от 55 до 76% от общего числа специалистов на соответствующем уровне. Кроме того, можно отметить, что в целом по стране на локальном уровне наблюдается наименьший процент охвата персонала программами повышения квалификации, а именно лишь 55%. При этом отмечается положительная корреляция в лабораторном звене и на локальном уровне среди персонала, повысившего квалификацию ($r = 0,5$ при $p < 0,05$). То есть можно предположить, что если в регионе уровень внимания к вопросу повышения квалификации специалистов надлежащий (либо ненадлежащий), то он однонаправлен на этих 2 уровнях ветеринарной службы.

Обращает на себя внимание тот факт, что для уровня регветнадзора значение по рассматриваемому показателю составило всего 66%. Дело в том, что персонал данного уровня представлен госветинспекторами – государственными гражданскими служащими, для которых периодичность повышения квалификации определена не реже 1 раза в 3 года [5, 6]. Несомненно, в силу

Рис. 6. Уровень образования ветеринарных специалистов в учреждениях ветеринарии субъектов РФ



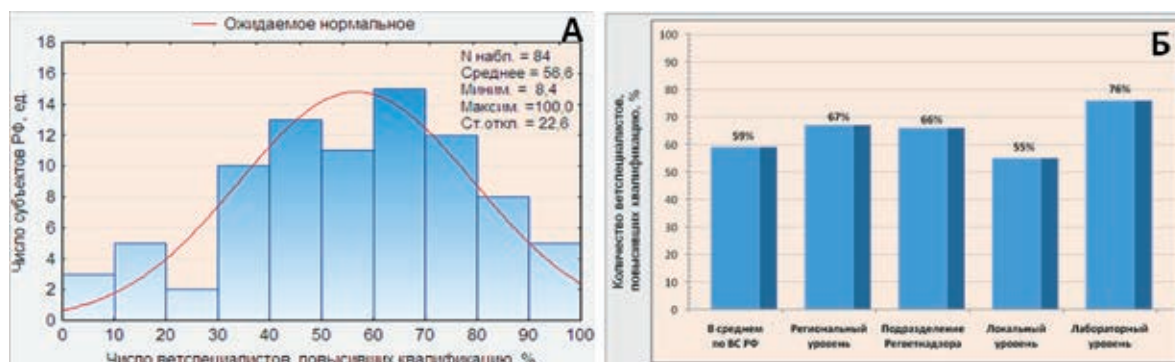


Рис. 7. Охват персонала ветеринарных учреждений субъектов РФ программами повышения квалификации

неоднородности регионов данный показатель различается между субъектами, и для 33 регионов получены стопроцентные значения, однако для оставшейся части страны показатели крайне низки, а для 13 регионов – нулевые. Выявленные факты свидетельствуют о низком уровне дисциплины в исполнении законодательства страны и недостаточном внимании к данному вопросу, а также о недостаточности и неэффективности дисциплинарных мер.

Вместе с тем проведенный выше анализ отражает лишь количественные характеристики системы повышения квалификации. Рассматривая же ситуацию с позиций качественной оценки, можно с определенной долей уверенности сказать, что при отсутствии государственного образовательного стандарта дополнительного профессионального образования ветеринарных специалистов и регламента, регулирующего указанный процесс, не представляется возможным контролировать количество и качество образовательных программ, а также компетентность учреждений, оказывающих образовательные услуги. То есть процесс повышения квалификации в отечественной ветеринарии приобретает формальный характер.

Сложившийся принцип организации повышения квалификации в ветеринарии, согласно которому специалисту достаточно повысить свою квалификацию 1 раз в 3–5 лет, не отвечает требованиям времени с учетом скорости обновления в научной и нормативно-правовой информации. Данный подход не позволяет своевременно перестраивать свою деятельность соответственно развитию инновационных процессов, вследствие чего снижается готовность к реализации задач, возложенных на ветеринарную службу. Для улучшения эффективности программ повышения квалификации необходимо разработать и внедрить систему непрерывного ветеринарного образования, а также систему аккредитации специалистов. Подобная система успешно реализуется во многих развитых странах мира, в том числе и Австралии [13], а также в настоящее время внедряется в отечественном здравоохранении [9]. Основным принцип непрерывного образования заключается в том, что оно начинается сразу после получения работником специальности и продолжается непрерывно в течение всей профессиональной деятельности с обязательным персонифицированным учетом и периодическим контролем его знаний и практических умений. Однако внедрение таких масштабных

нововведений в систему российского ветеринарного образования крайне затруднительно без законодательной поддержки, должного внимания со стороны высшего управляющего звена ветеринарной службы РФ и заинтересованности профессионального ветеринарного сообщества.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов изложенного выше исследования трудовых ресурсов государственной ветеринарной службы в субъектах Российской Федерации можно сделать следующие выводы:

- Основная масса ветеринарных кадров представлена специалистами локального уровня, которые составляют более 80% от общего количества ветеринарных работников.

- Количество ветеринарных специалистов в субъектах страны в значительной степени различается и находится в выраженной зависимости от таких факторов, как численность населения и поголовья животных, число муниципальных образований и объем произведенной в субъекте продукции животноводства.

- Укомплектованность ветеринарных учреждений квалифицированными специалистами находится в пределах 90%. Однако в большинстве субъектов страны ощущается более выраженный фактический дефицит ветспециалистов в учреждениях локального и лабораторного уровней.

- В абсолютном большинстве регионов страны существует необходимость разработки и внедрения системы нормирования труда с учетом организационно-технических условий трудовой деятельности в регионах.

- В большинстве субъектов РФ отмечается увеличение среднего возраста ветеринарных специалистов до 40–45 лет. Данный процесс более выражен на локальном уровне, где отмечается наибольший удельный вес числа сотрудников, достигших пенсионного возраста. Между тем в последние 5 лет отмечается значительный приток молодых специалистов в учреждения локального уровня.

- Размер среднемесячной заработной платы ветеринарных специалистов значительно варьирует от региона к региону. Оплата труда в учреждениях локального и лабораторного уровней практически в 2 раза ниже, чем на региональном уровне и уровне госветнадзора (где заработная плата в среднем на 20–30% выше уровня средней зарплаты по субъекту). Кроме того, зарплата специалистов локального и лабораторного уровней ниже среднего размера оплаты труда по субъекту на

30%. Высокая оплата труда отмечается в мегаполисах, а также в дальневосточных и северных регионах страны.

– Результаты исследования свидетельствуют о достаточно высоком удельном весе числа ветеринарных специалистов с высшим ветеринарным образованием в учреждениях ветеринарии субъектов РФ. При этом отмечается недостаточный (порядка 55–76% от общего числа персонала) охват ветеринарных специалистов программами повышения квалификации на всех организационных уровнях ветеринарной службы. Для повышения соответствия ветеринарной службы постоянно меняющимся задачам как на национальном, так и международном уровнях, в настоящее время необходима модернизация системы образования, в том числе системы повышения квалификации путем внедрения программы непрерывного ветеринарного образования.

Данные, представленные в исследовании, позволили оценить ситуацию в ветеринарной службе страны на момент сбора первичных данных, т. е. на 2017 г. Однако, ввиду отсутствия (по крайней мере, в свободном доступе) более ранних исследований по данной теме, невозможно оценить направление происходящих на сегодняшний день процессов касательно рассмотренных в настоящем исследовании количественных и качественных характеристик трудовых ресурсов. Вследствие этого затруднительно спрогнозировать ситуацию по рассмотренным показателям в перспективе. Однако полученные результаты могут служить индикатором для определения приоритетов в области кадровой политики и принятия управленческих решений на различных уровнях власти с целью совершенствования деятельности государственной ветеринарной службы в субъектах РФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кодекс здоровья наземных животных. Т. 1. Общие положения / OIE. – 25-е изд. – Paris, France: OIE, 2016. – 450 с.
2. Никитин И. Н. Организация и экономика ветеринарного дела: учебник для вузов. – 6-е изд., перераб. и доп. – СПб.; М.; Краснодар: Лань, 2014. – 369 с.
3. Никитин И. Н. Практикум по организации ветеринарного дела и предпринимательству. – М.: КолосС, 2007. – 311 с.
4. О ветеринарии: Закон РФ от 14.05.1993 № 79-ФЗ. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_4438.
5. О государственной гражданской службе Российской Федерации: Федеральный закон РФ от 27.07.2004 № 79-ФЗ. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_48601.
6. О дополнительном профессиональном образовании государственных гражданских служащих РФ: Указ Президента РФ от 28.12.2006 № 1474. – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_64958.
7. О повышении квалификации специалистов в области ветеринарии: Приказ Минсельхоза России от 30.01.2009 № 35. – М.: Консультант Плюс, 2018. – 2 с.
8. Организация и осуществление регионального государственного ветеринарного надзора в Российской Федерации в 2016 году / М. А. Шибайев, И. М. Клиновская, А. С. Оганесян [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2017. – № 4. – С. 49–57.
9. Портал непрерывного медицинского и фармацевтического образования Минздрава России (2016). – URL: <https://edu.rosminzdrav.ru> (дата обращения: 23.12.2017).
10. Федеральная служба государственной статистики. – URL: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/wages (дата обращения: 15.01.2018).
11. Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору. – URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps/news/25863.html> (дата обращения: 15.04.2018).
12. Юшкова Л. Я. Организация ветеринарного дела в Российской Федерации (в развитие закона РФ «О ветеринарии»). – Новосибирск: МСХиП РФ. Департ. ветеринарии. ИЭВСиДВ, 2001. – 428 с.
13. Australian veterinary association. – URL: <http://www.ava.com.au/veted/> (дата обращения: 20.12.2017).
14. FVE Survey of the veterinary profession in Europe. – Federation of Veterinarians of Europe (FVE), April, 2015. – Arundel: Mirza & Nacey Research Ltd, 2015. – 136 p. – URL: http://www.fve.org/news/download/FVE%20Survey_full_final.pdf (дата обращения: 24.02.2018).
15. The OIE tool for the evaluation of performance of veterinary services (OIE PVS Tool). – URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Support_to_OIE_Members/pdf/PVS_A_Tool_Final_Edition_2013.pdf (дата обращения: 20.12.2017).
16. Veterinary education. – URL: <http://www.oie.int/support-to-oie-members/veterinary-education> (дата обращения: 17.12.2017).
17. Veterinary statutory bodies. – URL: <http://www.oie.int/support-to-oie-members/veterinary-statutory-bodies> (дата обращения: 25.12.2017).

REFERENCES

1. Terrestrial Animal Health Code. V. 1. General considerations. OIE. 25th ed. Paris, France: OIE, 2016.
2. Nikitin I. N. Organizational and economic aspects of veterinary practice: workbook for higher education institutions [Organizaciya i ekonomika veterinarnogo dela: uchebnik dlya vuzov]. 6th ed., reviewed and amended. SPb.; M.; Krasnodar: Lan', 2014 (in Russian).
3. Nikitin I. N. Workshop on the organization of the veterinary practice and entrepreneurship [Praktikum po organizacii veterinarnogo dela i predprinimatel'stvu]. M.: KolosS, 2007 (in Russian).
4. RF Veterinary Law No. 4979-1 of May 14, 1993 (amended on April 23, 2018) [O veterinarii: Zakon RF]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_4438 (in Russian).
5. RF Federal Law No. 79-FZ of June 27, 2004 concerning civil service in the Russian Federation [O gosudarstvennoj grazhdanskoj sluzhbe Rossijskoj Federacii: Federal'nyj zakon RF]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_48601 (in Russian).
6. RF President Decree No. 1474 of December 28, 2006 concerning supplementary vocational education [O dopolnitel'nom professional'nom obrazovanii gosudarstvennyh grazhdanskih sluzhashchih RF: Ukaz Prezidenta RF]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_64958 (in Russian).
7. RF Ministry of Agriculture Order No. 35 of January 30, 2009 on advanced training for veterinarians [O povyshenii kvalifikacii specialistov v oblasti veterinarii: Prikaz Minsel'hoza Rossii]. M.: Consultant Plus, 2018 (in Russian).
8. Organization and implementation of the regional veterinary surveillance in the Russian Federation in 2016 [Organizaciya i osushchestvlenie regional'nogo gosudarstvennogo veterinarnogo nadzora v Rossijskoj Federacii v 2016 godu]. M. A. Shibayev, I. M. Klinovitskaya, A. S. Oganesean [et al.]. *Veterinary Science Today*. 2017; 4: 49–57 (in Russian).
9. RF Ministry of Health Web-portal of continuous medical and pharmaceutical education (2016) [Portal nepreryvnogo medicinskogo i farmaceuticheskogo obrazovaniya Minzdrava Rossii (2016)]. URL: <https://edu.rosminzdrav.ru> (access date: 23.12.2017) (in Russian).
10. Federal Service of National Statistics [Federal'naya sluzhba gosudarstvennoj statistiki]. URL: http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/wages (access date: 15.01.2018) (in Russian).
11. Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance [Federal'naya sluzhba po veterinarnomu i fitosanitarnomu nadzoru]. URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps/news/25863.html> (access date: 15.04.2018) (in Russian).
12. Yushkova L.Ya. Organization of veterinary practice in the Russian Federation (in furtherance of the RF Veterinary Law) [Organizaciya veterinarnogo dela v Rossijskoj Federacii (v razvitie zakona RF «O veterinarii»)]. Novosibirsk: RF Ministry of Agriculture and Food. Veterinary Department. IEVSIDV, 2001 (in Russian).
13. Australian veterinary association. URL: <http://www.ava.com.au/veted/> (access date: 20.12.2017).
14. FVE Survey of the veterinary profession in Europe. Federation of Veterinarians of Europe (FVE), April, 2015. Arundel: Mirza & Nacey Research Ltd, 2015. URL: http://www.fve.org/news/download/FVE%20Survey_full_final.pdf (access date: 24.02.2018).
15. The OIE tool for the evaluation of performance of veterinary services (OIE PVS Tool). URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Support_to_OIE_Members/pdf/PVS_A_Tool_Final_Edition_2013.pdf (access date: 20.12.2017).
16. Veterinary education. URL: <http://www.oie.int/support-to-oie-members/veterinary-education> (access date: 17.12.2017).
17. Veterinary statutory bodies. URL: <http://www.oie.int/support-to-oie-members/veterinary-statutory-bodies> (access date: 25.12.2017).

Поступила 06.07.18

Принята в печать 09.10.18

ИММУНОПРОФИЛАКТИКА ПАРВОВИРУСНОГО ЭНТЕРИТА СОБАК

А. В. Шаталов¹, С. П. Данников², А. Н. Кононов³, В. С. Скрипкин⁴

¹ Аспирант кафедры эпизоотологии и микробиологии, ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ», г. Ставрополь, Россия, e-mail: shatalov.ssau@mail.ru

² Доцент кафедры физиологии, хирургии и акушерства, кандидат биологических наук, ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ», г. Ставрополь, Россия, e-mail: ds.as@mail.ru

³ Профессор кафедры эпизоотологии и микробиологии, доктор ветеринарных наук, ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ», г. Ставрополь, Россия, e-mail: fvm-fvm@yandex.ru

⁴ Доцент кафедры физиологии, хирургии и акушерства, кандидат ветеринарных наук, ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ», г. Ставрополь, Россия, e-mail: SkripkinVS@mail.ru

РЕЗЮМЕ

В обзоре обобщены сведения о специфике формирования поствакцинального иммунитета у собак к возбудителю парвовирусного энтерита и представлен анализ данного иммунитета. Поиск публикаций осуществлялся в библиографических и реферативных базах данных РИНЦ, Scopus, Web of Science, Agris, PubMed, поисковой системе Google Scholar и электронной библиотеке диссертаций РГБ. Установлено, что наиболее эффективна 3-кратная вакцинация щенков, при этом последнее введение вакцины должно осуществляться в возрасте 16 нед или позже. При необходимости допускается введение вакцины в 4-недельном возрасте, а также беременным особям. После иммунизации темпы прироста титра антител к парвовирусному энтериту не зависят от половой принадлежности собак и вида вакцин, но могут изменяться в зависимости от возраста, массы тела и наличия материнских антител. Показатели титров материнских антител к парвовирусу собак 2-го типа у новорожденных щенков демонстрируют широкую индивидуальную инвариантность. Применение иммуномодуляторов в качестве адъювантов в составе вакцин является оправданным средством для сохранения высокого титра антител к парвовирусу собак 2-го типа в поствакцинальный период, а применение современных ДНК-вакцин – разумной альтернативой традиционной вакцинации. Вероятность возникновения осложнений после введения ассоциированной вакцины, содержащей антигены возбудителя парвовирусного энтерита собак, составляет около 3,8%, а predisposing факторами риска является кастрация, низкая масса тела и возраст моложе 9 мес. Современные вакцины, для изготовления которых используется штамм NL-35-D CPV-2, полностью защищают от других вирулентных штаммов парвовируса собак 2-го типа.

Ключевые слова: парвовирусный энтерит собак, иммунопрофилактика, вакцинация, титр антител, иммунитет.

UDC 619:616.98:578.823.91:636.7:616-085.371

IMMUNOPROPHYLAXIS OF CANINE PARVOVIRAL ENTERITIS

A. V. Shatalov¹, S. P. Dannikov², A. N. Kononov³, V. S. Skripkin⁴

¹ Post-Graduate Student of the Chair for Epizootology and Microbiology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Stavropol State Agrarian University", Stavropol, Russia, e-mail: shatalov.ssau@mail.ru

² Associate Professor of the Chair for Physiology, Surgery and Midwifery, Candidate of Science (Biology), Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Stavropol State Agrarian University", Stavropol, Russia, e-mail: ds.as@mail.ru

³ Professor of the Chair for Epizootology and Microbiology, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Stavropol State Agrarian University", Stavropol, Russia, e-mail: fvm-fvm@yandex.ru

⁴ Associate Professor of the Chair for Physiology, Surgery and Midwifery, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Stavropol State Agrarian University", Stavropol, Russia, e-mail: Skripkin@mail.ru

SUMMARY

Data on the specificity of the development of post-vaccination immunity against parvovirus enteritis agent in dogs are summarized and analyzed in the review. The publications were searched for using the following bibliographical and reference databases: Russian Science Citation Index (RSCI), Scopus, Web of Science, Agris, PubMed, as well as Google Scholar search system and the electronic library of theses of the Russian State Library (RSL). Triple vaccination of puppies was found to be the most effective, therewith the puppies shall be last vaccinated at the age of 16-weeks or older. Where necessary, vaccination of 4-week-old puppies and pregnant dogs is allowed. After immunization, the rates of increase in anti-canine parvovirus enteritis antibody titre do not depend on the sex of dogs or vaccine type but can vary depending on age, body weight and the presence of maternal antibodies. The titres of maternal antibodies against canine parvovirus type 2 in newborn puppies demonstrate broad individual invariance. The use of immunomodulators as adjuvants in vaccine composition is proved to be effective to maintain the high titre of antibodies against canine parvovirus type 2 in the post-vaccination period, and the modern DNA-vaccine is a reasonable alternative to conventional vaccination. The probability of adverse reactions resulting from the administration of a combined vaccine containing canine parvovirus enteritis agent antigen is 3.8%; the predisposing risk factors are the following: neutering, low body weight and the age of less than 9 months old. Contemporary vaccines based on NL-35-D CPV-2 strain confer the full protection from other virulent strains of canine parvovirus type 2.

Key words: canine parvovirus enteritis, immunoprophylaxis, vaccination, antibody titer, immunity.

ВВЕДЕНИЕ

Парвовирусный энтерит остается одной из самых опасных и распространенных инфекционных болезней собак во всем мире с высокой вероятностью летальности, вызывает не только местное повреждение желудочно-кишечного тракта, но и значительную системную эндотоксемию [25].

Возбудителем парвовирусного энтерита собак является парвовирус 2-го типа (CPV-2), который подразделяется в свою очередь на 3 циркулирующих штамма (CPV-2a, CPV-2b и CPV-2c), распространенных по всему миру с различной частотой и уровнем генетической изменчивости, что определяет патогенные свойства вируса [18, 29].

Вакцинация остается важнейшим мероприятием в ветеринарной практике по предупреждению возникновения инфекционных болезней и сохранению здоровья мелких домашних животных, при этом рекомендации относительно применения вакцин в последние годы подвергаются значительным изменениям и преобразованиям [14, 15, 30].

Введение ассоциированной вакцины против болезней плотоядных вызывает прирост специфических вируснейтрализующих антител, создает напряженный иммунитет и предохраняет от заражения парвовирусным энтеритом [3]; при этом для обеспечения благополучной эпизоотической обстановки необходимо охватить вакцинацией не менее 75% поголовья собак [6]. Следует отметить, что соблюдение всех правил и сроков вакцинации собак не гарантирует полной защиты от заражения их парвовирусным энтеритом, и по разным данным уровень такой защиты может составлять 3–13%, что обусловлено формированием недостаточно высокого титра антител [17, 20], даже у возрастных животных с исправной историей вакцинации [26]. Заболевание парвовирусным энтеритом щенков, не достигших 6-недельного возраста, может возникать и при наличии достаточно высоких титров материнских антител [11]. В связи с этим проблема эффективной иммунопрофилактики парвовирусного энтерита собак остается открытой.

Целью данного обзора были анализ и обобщение сведений о специфике формирования поствакцинального иммунитета у собак к возбудителю парвовирусного энтерита.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен поиск научных публикаций и практических руководств (на русском и английском языках) по проблемам и тактике вакцинации собак против парвовирусного энтерита. Поиск публикаций осуществлялся в библиографических и реферативных базах данных РИНЦ, Web of Science, Scopus, PubMed, Agris, поисковой системе Google Scholar и электронной библиотеке диссертаций (РГБ). Осуществлялся поиск всех научных публикаций по исследуемой теме вне зависимости от даты их выхода.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Международная ветеринарная ассоциация мелких домашних животных (WSAVA) рекомендует проводить вакцинацию несколько раз, причем последняя вакцина должна быть введена в возрасте 16 нед или старше, после чего должна быть выполнена ревакцинация в возрасте 6 или 12 мес. Если в силу каких-либо обсто-

ятельств возможно лишь однократное введение вакцины, то она должна быть введена в возрасте 16 нед или старше. WSAVA не рекомендует вводить базовые вакцины чаще, чем 1 раз в 3 года после ревакцинации в возрасте 6 или 12 мес, поскольку длительность иммунитета может составлять долгие годы вплоть до пожизненной защиты [30]. Д. И. Реутская (2003) рекомендует вакцинировать щенков с 6-недельного возраста с 2 последующими ревакцинациями с интервалами в 3 и 2 нед соответственно, что увеличивает показатели уровня титра специфических антител животных в среднем на 61,5% [5].

Вакцинация щенков в возрасте 4 нед с высоким уровнем материнских антител вызывает ранние темпы сероконверсии, которые могут привести к уменьшению «окна восприимчивости» в отношении парвовируса собак 2-го типа, однако целесообразной такая вакцинация становится только в особо эндемичных районах [16].

К. D. Altman и соавт. (2017) наблюдали сильную отрицательную корреляцию между сроком последней вакцинации и заражением щенков парвовирусным энтеритом – чем позже щенок получает последнюю вакцину, тем ниже риск отказа вакцинации [10]. Это подтверждает гипотезу о том, что использование последней вакцинации у щенков в возрасте менее 16 нед предрасполагает к отказу вакцины. В исследованиях, проведенных R. D. Schultz и соавт. (2010), установлено, что у собак, которых не ревакцинировали от парвовирусного энтерита в течение 9 лет, сывороточные антитела были достаточно высокими для потенциальной защиты от заражения [9]. Даже однократная вакцинация собак в возрасте 16 нед или позже может обеспечить долгосрочный иммунитет у очень высокого процента животных.

По данным M. Taguchi и соавт. (2011), после иммунизации против CPV-2 лишь у 86% собак сохраняются достаточно высокие титры антител, которые были более высокие у молодых собак, при этом никаких половых различий в значениях данного показателя авторами выявлено не было [12]. В дальнейших исследованиях было показано, что титры антител к возбудителю парвовирусного энтерита были значительно выше у собак с массой тела менее 5 кг, по сравнению с более крупными особями [19].

Большинство собак с регулярной базовой иммунизацией демонстрируют достаточный титр антител к парвовирусному энтериту. Однако D. Schoder и соавт. (2006) указывают на важность индивидуального подхода к иммунопрофилактике парвовируса собак 2-го типа; ориентиром для этого подхода служат серологические исследования для определения титра вирусоспецифических антител [27].

У 2-недельных щенков, полученных от собак, дополнительно иммунизированных за 2–4 нед до вязки, титры антител к CPV-2 выше, чем у щенков от невакцинированных собак [2]. Щенки от собак, которых вакцинировали на 42-й день беременности, получают высокий уровень иммуноглобулина через молозиво и считаются защищенными от парвовирусного энтерита в первые 6–7 нед жизни [13]. Разница между показателями уровня титра специфических антител в сыворотке крови 10-суточных щенков из одного помета составляет от 25 до 87,5%, а из разных помётов

достигает 94%. Показатель уровня титра материнских специфических антител в сыворотке крови щенков в возрасте 10 сут составляет от 4,2 до 50% уровня титра специфических антител в сыворотке крови их матерей, а при отъеме от сук снижается в среднем еще на 32% и восстанавливается в 6-недельном возрасте. Между массой новорожденных щенков и показателями титров специфических антител в сыворотке крови существует тесная прямая зависимость, которая более выражена у самок, чем у самцов. Во время лактации собак титр антител к антигенам возбудителя парвовирусного энтерита в сыворотке крови снижается в среднем на 53,8% [5].

После вакцинации собак против парвовирусного энтерита увеличение титра специфических антител, как при использовании аттенуированной, так и инактивированной вакцины, происходит без существенных различий [21]. Т. С. Галкина и соавт. (2006) установили, что вакцины разных производителей не отличаются антигенной активностью в отношении парвовируса собак 2-го типа, а уровень прироста вирусоспецифических антител зависит от наличия материнских антител, а не от вида вакцины. Современные ДНК-вакцины являются эффективными для индуцирования как специфических к CPV-2 гуморальных, так и клеточных иммунных ответов и могут рассматриваться как разумная альтернатива традиционным вакцинам [22].

Применение некоторых препаратов из фармакотерапевтической группы иммуномодуляторов (ронколейкин и иммунофан) в качестве адъювантов вакцин способствует сохранению высокого титра антител в поствакцинальный период у молодых собак [4]. *Propionibacterium avidum* KP-40 – мощный стимулятор системы макрофагов-моноцитов и индуктор эндогенного интерферона. А. К. Siwicki и соавт. (1998), используя его в качестве адъюванта вакцин против парвовируса собак 2-го типа, установили значительное усиление фагоцитарной и бактерицидной активности лейкоцитов крови, сопровождающейся повышенными уровнями в сыворотке крови интерферона-гамма и интерлейкина-1 и более высоких конканавалин-А-индуцированных бласттрансформированных лимфоцитов [7]. Сделан вывод о том, что *Propionibacterium avidum* KP-40 может применяться в качестве мощного и безопасного адъюванта при вакцинации собак и, кроме этого, обеспечивает повышение неспецифической антибактериальной и противовирусной резистентности организма.

По данным Г. Е. Мооре и соавт. (2005), введение ассоциированной вакцины, в том числе содержащей антигены CPV-2, вызывает различные побочные действия лишь у 3,83% собак, при этом предрасполагающими факторами риска были кастрация, низкая масса тела и возраст моложе 9 мес [8]. Случаи же возникновения парвовирусного энтерита вскоре после вакцинации связаны с заражением полевыми штаммами парвовируса собак 2-го типа, а не с возвратом к вирулентности модифицированного живого вируса, содержащегося в вакцине [24].

Мутации в полевых изолятах парвовируса собак 2-го типа вызвали опасения относительно способности вакцин, содержащих CPV-2, защищать от заражения недавно идентифицированными типами CPV-2b и CPV-2c. Однако исследования, проведенные Е. М. Siedek и соавт. (2011), продемонстрировали перекрестную защиту от вирулентных штаммов CPV-2b и CPV-2c парвови-

русного энтерита собак, вакцинированных штаммом NL-35-D CPV-2, используемым в настоящее время для изготовления коммерческих вакцин [28]. Тем не менее филогенетические исследования указывают на важность непрерывного молекулярного типирования вируса как инструмента для мониторинга распространенных циркулирующих штаммов CPV-2 и оценки эффективности существующих вакцин. Откорректированные типы вакцин, которые необходимо использовать, возможно, придется снова тестировать в соответствии с каждой эпизоотической ситуацией для достижения оптимальной иммунной защиты собак от парвовирусного энтерита [23].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наиболее эффективная вакцинация щенков предполагает 3-кратное введение вакцины, при этом 1-е ее введение должно осуществляться не ранее чем в 6 нед, а последнее – в 16 нед или позже. При необходимости допускается введение вакцины против парвовируса собак 2-го типа в 4-недельном возрасте, а также беременным особям. Большинство собак с регулярной базовой иммунизацией демонстрируют достаточные титры антител к парвовирусному энтериту, темпы прироста которых не зависят от половой принадлежности животных и вида вакцин, но могут изменяться в зависимости от возраста, массы тела и наличия материнских антител. Показатели титров материнских антител к CPV-2 у новорожденных щенков демонстрируют широкую индивидуальную инвариантность и имеют тесную взаимосвязь с массой тела, полом, а также наличием антител у матери. Применение иммуномодуляторов в качестве адъювантов для вакцин является оправданным средством для сохранения высокого титра антител к парвовирусу собак 2-го типа в поствакцинальный период, а применение современных ДНК-вакцин – разумной альтернативой традиционной вакцинации. Вероятность возникновения осложнений после введения ассоциированной вакцины, содержащей антигены возбудителя парвовирусного энтерита, составляет около 3,8%, а предрасполагающими факторами риска является кастрация, низкая масса тела и возраст моложе 9 мес. Современные вакцины, изготовленные из штаммов CPV-2, полностью защищают от других вирулентных штаммов парвовируса собак 2-го типа, однако филогенетические исследования указывают на важность непрерывного молекулярного типирования вируса для мониторинга распространенных циркулирующих штаммов вируса и оценки эффективности существующих вакцин.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Галкина Т. С., Глобенко Л. А., Мороз Н. В. Динамика накопления вирусспецифических антител против чумы плотоядных и парвовирусного энтерита при вакцинации собак // Ветеринарная патология. – 2006. – № 4. – С. 149–152.
2. Дубков Ю. А. Усовершенствование метода специфической профилактики парвовирусного энтерита собак: дис. ... канд. вет. наук. – Москва, 2000. – 145 с.
3. Иммуногенные свойства ассоциированных вакцин против болезней плотоядных / Н. В. Мороз, Л. А. Глобенко, В. М. Захаров, В. Ю. Фоменко // Труды Федерального центра охраны здоровья животных. – 2005. – Т. 3. – С. 273–279.
4. Полковниченко А. П., Захаркина Н. И. Эффективность препарата Ронколейкин в качестве адъюванта вакцины против парвовирусной инфекции собак // Известия Оренбургского ГАУ. – 2017. – № 4 (66). – С. 150–153.

5. Реутская Д. И. Парвовирусный энтерит собак: эпизоотология, иммунология, профилактика и меры борьбы: дис. ... канд. вет. наук. – Барнаул, 2003. – 145 с.
6. Хожаева И. Г. Чума и парвовирусный энтерит собак в условиях крупного промышленного города: эпизоотология, клиника, иммунология и меры борьбы: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Алматы, 2001. – 21 с.
7. Adjuvant properties of killed *Propionibacterium avidum* KP-40 in vaccination of dogs against canine parvovirus / A. K. Siwicki, J. Krzyzanowski, M. Bartoszcz [et al.] // *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. – 1998. – Vol. 105 (5). – P. 186–190; PMID: 9646552.
8. Adverse events diagnosed within three days of vaccine administration in dogs / G. E. Moore, L. F. Guptill, M. P. Ward [et al.] // *J. Am. Vet. Med. Assoc.* – 2005. – Vol. 227 (7). – P. 1102–1108; DOI: 10.2460/javma.2005.227.1102.
9. Age and long-term protective immunity in dogs and cats / R. D. Schultz, B. Thiel, E. Mukhtar [et al.] // *J. Comp. Pathol.* – 2010. – Vol. 142 (S1). – P. 102–108; DOI: 10.1016/j.jcpa.2009.10.009.
10. Altman K.D., Kelman M., Ward M.P. Are vaccine strain, type or administration protocol risk factors for canine parvovirus vaccine failure? // *Vet. Microbiol.* – 2017. – Vol. 210. – P. 8–16; DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.08.019.
11. Antibody levels and protection to canine parvovirus type 2 / G. Elia, A. Cavalli, F. Cirone [et al.] // *J. Vet. Med. B: Infect. Dis. Vet. Public Health.* – 2005. – Vol. 52 (7–8). – P. 320–322; DOI: 10.1111/j.1439-0450.2005.00870.x.
12. Antibody titers for canine parvovirus type-2, canine distemper virus, and canine adenovirus type-1 in adult household dogs / M. Taguchi, K. Namikawa, T. Maruo [et al.] // *Can. Vet. J.* – 2011. – Vol. 52 (9). – P. 983–986; PMID: PMC3157073.
13. Bacic D., Obrenovic S., Trailovic D. R. Humoral immunity of pregnant bitches, vaccinated with inactivated vaccine against parvoviral infections in dogs // *Veterinarski Glasnik*. – 2002. – Vol. 56 (5–6). – P. 279–284; DOI: 10.2298/VETGL0206279B.
14. Davis-Wurzel G. M. 2013 update on current vaccination strategies in puppies and kittens // *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* – 2014. – Vol. 44 (2). – P. 235–263; DOI: 10.1016/j.cvs.2013.11.006.
15. Day M. J. Small animal vaccination: a practical guide for vets in the UK // *In Practice*. – 2017. – Vol. 39 (3). – P. 110–118; DOI: 10.1136/inp.j615.
16. De Cramer K. G., Stylianides E., van Vuuren M. Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus // *Vet. Microbiol.* – 2011. – Vol. 149 (1–2). – P. 126–132; DOI: 10.1016/j.vetmic.2010.11.004.
17. Deepa P. M., Saseendranath M. R. Incidence of canine parvoviral infection in immunised dogs // *Indian Vet. J.* – 2002. – Vol. 79 (7). – P. 643–644.
18. Detection of a canine parvovirus type 2c with a non-coding mutation and its implications for molecular characterization / N. Decaro, C. Desario, F. Amorisco [et al.] // *Vet. J.* – 2013. – Vol. 196 (3). – P. 555–557; DOI: 10.1016/j.tvjl.2012.12.017.
19. Effects of body weight on antibody titers against canine parvovirus type 2, canine distemper virus, and canine adenovirus type 1 in vaccinated domestic adult dogs / M. Taguchi, K. Namikawa, T. Maruo [et al.] // *Can. J. Vet. Res.* – 2012. – Vol. 76 (4). – P. 317–319; PMID: PMC3460611.
20. Houston D. M., Ribble C. S., Head L. L. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982–1991) // *J. Am. Vet. Med. Assoc.* – 1996. – Vol. 208 (4). – P. 542–546; PMID: 8603904.
21. Humoral immunity in puppies of immune bitches vaccinated with an attenuated and inactivated / D. Bacic, S. Obrenovic, M. Valcic [et al.] // *Veterinarski Glasnik*. – 2002. – Vol. 56 (5–6). – P. 285–294; DOI: <https://doi.org/10.2298/VETGL0206285B>.
22. Immunogenicity of a DNA-launched replicon-based canine parvovirus DNA vaccine expressing VP2 antigen in dogs / S. S. Dahiya, M. Saini, P. Kumar, P. K. Gupta // *Res. Vet. Sci.* – 2012. – Vol. 93 (2). – P. 1089–1097; DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.01.017.
23. Miranda C., Thompson G. Canine parvovirus in vaccinated dogs: A field study // *Vet. Rec.* – 2016. – Vol. 178 (16). – P. 397; DOI: 10.1136/vr.103508.
24. Occurrence of severe gastroenteritis in pups after canine parvovirus vaccine administration: A clinical and laboratory diagnostic dilemma / N. Decaro, C. Desario, G. Elia [et al.] // *Vaccine*. – 2007. – Vol. 25 (7). – P. 1161–1166; DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.10.020.
25. Prittie J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention // *J. Vet. Emerg. Critical Care*. – 2004. – Vol. 14 (3). – P. 167–176; DOI: 10.1111/j.1534-6935.2004.04020.x.
26. Severe parvovirus in a 12-year-old dog that had been repeatedly vaccinated / N. Decaro, F. Cirone, C. Desario [et al.] // *Vet. Rec.* – 2009. – Vol. 164 (19). – P. 593–595; PMID: 19429938.
27. Study on the immune status against canine distemper virus and canine parvovirus-2 in vaccinated dogs in lower Austria and Vienna / D. Schoder, V. Benetka, I. Sommerfeld-Stur [et al.] // *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*. – 2006. – Vol. 93 (7). – P. 176–182.
28. Vaccination with canine parvovirus type 2 (CPV-2) protects against challenge with virulent CPV-2b and CPV-2c / E. M. Siedek, H. Schmidt, G. H. Sture, R. Raue // *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* – 2011. – Vol. 124 (1–2). – P. 58–64; PMID: 21306055.
29. Vannamahaxay S., Chuammitri P. Update on canine parvovirus: Molecular and genomic aspects, with emphasis on genetic variants affecting the canine host // *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* – 2017. – Vol. 23 (5). – P. 847–856; DOI: 10.9775/kvfd.2017.17673.
30. WSAVA Guidelines for the vaccination of the dogs and cats / M. J. Day, M. C. Horzinek, R. D. Schultz, R. A. Squires // *J. Small Anim. Pract.* – 2016. – Vol. 57 (1). – P. E1–E45; DOI: 10.1111/jasp.2.12431.

REFERENCES

1. Galkina T. S., Globenko L. A., Moroz N. V. Dynamics of accumulation of virus specific antibodies against distemper and parvovirus enteritis associated with dog vaccination [Dinamika nakopleniya virusospecificheskih antitel protiv chumy plotoyadnyh i parvovirusnogo ehnterita pri vaktsinacii sobak]. *Veterinarnaya patologiya*. 2006; 4: 149–152 (in Russian).
2. Dubkov Yu. A. Improvement of canine parvovirus enteritis specific prevention method: Candidate of Science thesis (Veterinary Medicine) [Usovershenstvovanie metoda specificheskoy profilaktiki parvovirusnogo enterita sobak: dis. ... kand. vet. nauk]. Moscow, 2000 (in Russian).
3. Immunogenic properties of combined vaccines against carnivore diseases [Immunogennyye svoystva associirovannyh vakcin protiv boleznej plotoyadnyh]. N. V. Moroz, L. A. Globenko, V. M. Zakharov, V. Yu. Fomenko. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2005; 3: 273–279 (in Russian).
4. Polkovnichenko A. P., Zakharkina N. I. The efficacy of Ronkolejkin preparation used as an adjuvant in the vaccine against canine parvovirus infection [Effektivnost' preparata Ronkolejkin v kachestve ad'yuvanta vaktsiny protiv parvovirusnoj infekcii sobak]. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*. 2017; 4 (66): 150–153 (in Russian).
5. Reutskaya D. I. Canine parvovirus enteritis: epizootology, immunology, prevention and control measures: Candidate of Science (Veterinary Medicine) thesis [Parvovirusnyy ehnterit sobak: ehpiizootologiya, immunologiya, profilaktika i mery bor'by: dis. ... kand. vet. nauk]. Barnaul, 2003 (in Russian).
6. Khozhayeva I. G. Distemper and canine parvovirus enteritis in a large industrial city: epizootology, clinical signs, immunology and control measures: Candidate of Science (Veterinary Medicine) thesis autoabstract [Chuma i parvovirusnyy enterit sobak v usloviyah krupnogo promyshlennogo goroda: epizootologiya, klinika, immunologiya i mery bor'by: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk]. Almaty, 2001 (in Russian).
7. Adjuvant properties of killed *Propionibacterium avidum* KP-40 in vaccination of dogs against canine parvovirus. A. K. Siwicki, J. Krzyzanowski, M. Bartoszcz [et al.]. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 1998; 105 (5): 186–190; PMID: 9646552.

8. Adverse events diagnosed within three days of vaccine administration in dogs. G. E. Moore, L. F. Guptill, M. P. Ward [et al.]. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2005; 227 (7): 1102–1108; DOI: 10.2460/javma.2005.227.1102.
9. Age and long-term protective immunity in dogs and cats. R. D. Schultz, B. Thiel, E. Mukhtar [et al.]. *J. Comp. Pathol.* 2010; 142 (S1): 102–108; DOI: 10.1016/j.jcpa.2009.10.009.
10. Altman K.D., Kelman M., Ward M.P. Are vaccine strain, type or administration protocol risk factors for canine parvovirus vaccine failure? *Vet. Microbiol.* 2017; 210: 8–16; DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.08.019.
11. Antibody levels and protection to canine parvovirus type 2. G. Elia, A. Cavalli, F. Cirone [et al.]. *J. Vet. Med. B: Infect. Dis. Vet. Public Health.* 2005; 52 (7–8): 320–322; DOI: 10.1111/j.1439-0450.2005.00870.x.
12. Antibody titers for canine parvovirus type-2, canine distemper virus, and canine adenovirus type-1 in adult household dogs. M. Taguchi, K. Namikawa, T. Maruo [et al.]. *Can. Vet. J.* 2011; 52 (9): 983–986; PMID: PMC3157073.
13. Bacic D., Obrenovic S., Trailovic D. R. Humoral immunity of pregnant bitches, vaccinated with inactivated vaccine against parvoviral infections in dogs. *Veterinarski Glasnik.* 2002; 56 (5–6): 279–284; DOI: 10.2298/VETGL0206279B.
14. Davis-Wurzlner G. M. 2013 update on current vaccination strategies in puppies and kittens. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 2014; 44 (2): 235–263; DOI: 10.1016/j.cvsm.2013.11.006.
15. Day M. J. Small animal vaccination: a practical guide for vets in the UK. *In Practice.* 2017; 39 (3): 110–118; DOI: 10.1136/inp.j615.
16. De Cramer K. G., Stylianides E., van Vuuren M. Efficacy of vaccination at 4 and 6 weeks in the control of canine parvovirus. *Vet. Microbiol.* 2011; 149 (1–2): 126–132; DOI: 10.1016/j.vetmic.2010.11.004.
17. Deepa P. M., Saseendranath M. R. Incidence of canine parvoviral infection in immunised dogs. *Indian Vet. J.* 2002; 79 (7): 643–644.
18. Detection of a canine parvovirus type 2c with a non-coding mutation and its implications for molecular characterization. N. Decaro, C. Desario, F. Amorisco [et al.]. *Vet. J.* 2013; 196 (3): 555–557; DOI: 10.1016/j.tvjl.2012.12.017.
19. Effects of body weight on antibody titers against canine parvovirus type 2, canine distemper virus, and canine adenovirus type 1 in vaccinated domestic adult dogs. M. Taguchi, K. Namikawa, T. Maruo [et al.]. *Can. J. Vet. Res.* 2012; 76 (4): 317–319; PMID: PMC3460611.
20. Houston D. M., Ribble C. S., Head L. L. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982–1991). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1996; 208 (4): 542–546; PMID: 8603904.
21. Humoral immunity in puppies of immune bitches vaccinated with an attenuated and inactivated. D. Bacic, S. Obrenovic, M. Valcic [et al.]. *Veterinarski Glasnik.* 2002; 56 (5–6): 285–294; DOI: <https://doi.org/10.2298/VETGL0206285B>.
22. Immunogenicity of a DNA-launched replicon-based canine parvovirus DNA vaccine expressing VP2 antigen in dogs. S. S. Dahiya, M. Saini, P. Kumar, P. K. Gupta. *Res. Vet. Sci.* 2012; 93 (2): 1089–1097; DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.01.017.
23. Miranda C., Thompson G. Canine parvovirus in vaccinated dogs: A field study. *Vet. Rec.* 2016; 178 (16): 397; DOI: 10.1136/vr.103508.
24. Occurrence of severe gastroenteritis in pups after canine parvovirus vaccine administration: A clinical and laboratory diagnostic dilemma. N. Decaro, C. Desario, G. Elia [et al.]. *Vaccine.* 2007; 25 (7): 1161–1166; DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.10.020.
25. Prittie J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. *J. Vet. Emerg. Critical Care.* 2004; 14 (3): 167–176; DOI: 10.1111/j.1534-6935.2004.04020.x.
26. Severe parvovirus in a 12-year-old dog that had been repeatedly vaccinated. N. Decaro, F. Cirone, C. Desario [et al.]. *Vet. Rec.* 2009; 164 (19): 593–595; PMID: 19429938.
27. Study on the immune status against canine distemper virus and canine parvovirus-2 in vaccinated dogs in lower Austria and Vienna. D. Schoder, V. Benetka, I. Sommerfeld-Stur [et al.]. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift.* 2006; 93 (7): 176–182.
28. Vaccination with canine parvovirus type 2 (CPV-2) protects against challenge with virulent CPV-2b and CPV-2c. E. M. Siedek, H. Schmidt, G. H. Sture, R. Raue. *Berl. Munch. Tierärztl. Wochenschr.* 2011; 124 (1–2): 58–64; PMID: 21306055.
29. Vannamahaxay S., Chuammitri P. Update on canine parvovirus: Molecular and genomic aspects, with emphasis on genetic variants affecting the canine host. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2017; 23 (5): 847–856; DOI: 10.9775/kvfd.2017.17673.
30. WSAVA Guidelines for the vaccination of the dogs and cats. M. J. Day, M. C. Horzinek, R. D. Schultz, R. A. Squires. *J. Small Anim. Pract.* 2016; 57 (1): E1–E45; DOI: 10.1111/jsap.2_12431.

Поступила 19.10.18

Принята в печать 26.11.18

РАЗРАБОТКА МЕР по контролю ЗА СОДЕРЖАНИЕМ *SALMONELLA* И *CAMPYLOBACTER* В МЯСЕ ПТИЦ

Во всем мире сальмонеллез и кампилобактериоз входят в число самых часто регистрируемых алиментарных заболеваний. Считается, что наиболее значимым источником заражения является мясо кур. В разных странах риск возникновения заболеваний, вызванных *Salmonella* и *Campylobacter*, варьирует в зависимости от мер и стратегий контроля, применяемых на всех этапах от первичного производства до финальной подготовки мяса для употребления в пищу.

В 2007 г. Комиссия Кодекс Алиментариус пришла к выводу о необходимости разработки руководства по контролю *Salmonella* и *Campylobacter* у домашней птицы. Разработка данного документа начата на 39-й сессии Комитета по гигиене пищевых продуктов (CCFH), проведенной в конце 2007 г. Руководство состоит из трех разделов: в первом рассматривается надлежащая гигиеническая практика (GHP); во втором – меры контроля, исходя из потенциальной опасности; третий раздел фокусируется на риск-ориентированных мерах контроля. В течение следующего года проведена большая работа по созданию первого раздела. В том же году начата разработка второго раздела, однако разработчики столкнулись с ограниченностью данных о количественном определении эффекта и практическом применении таких мер. Третий раздел предполагал создание веб-инструмента, помогающего в принятии решений по управлению рисками. Его разработку проводили на совместном заседании экспертов ФАО/ВОЗ по оценке микробиологических рисков (JEMRA). Этот инструмент позволит риск-менеджеру вводить данные по своим системам производства и переработки и производить оценку наиболее эффективных мер для снижения риска в условиях производства.

В целях продолжения работы над руководством и обеспечением его самыми надежными научными данными, на 40-й сессии CCFH принято обращение к ФАО и ВОЗ с просьбой о предоставлении необходимых научных консультаций. В ответ на данный запрос с 4 по 8 мая 2009 г. в Риме, Италия, ФАО и ВОЗ проведено специальное Техническое заседание, на котором эксперты выполнили независимую оценку и обзор всей имеющейся научной информации по контролю *Campylobacter* и *Salmonella* на всех этапах производства бройлеров. Это позволило провести оценку научной обоснованности мер контроля, описанных в проекте руководства, а также внести в документ дополнения. По каждому этапу производства птицеводческой продукции сделана попытка количественной оценки мер и их эффективности в каждом случае. Особое внимание уделялось вероятному результату снижения рисков в условиях коммерческого производства, для этой цели эксперты привлекли все имеющиеся документально оформленные экспертные данные и доказательства в поддержку описанных мер. Таким образом, новейшие научные данные использованы для дополнения и расширения полусистемного литературного обзора, который сформировал основу проекта руководства, разработанного рабочей группой CCFH.

Эксперты выявили отсутствие количественных данных о влиянии конкретных мер, предпринимаемых во время производства живых животных, на превалентность и/или уровень контаминации *Salmonella* и *Campylobacter*. Более того, влияние любых мер, нацеленных на первичное производство, не было валидировано в полном объеме в коммерческой деятельности¹. Поэтому все меры, применяемые на конечной стадии производства домашней птицы, были классифицированы как меры надлежащей гигиенической практики (GHPs).

GHP-меры по шпарке, обеспериванию и потрошению, описанные в Проекте руководства Комиссии Кодекс Алиментариус, были поддержаны на Техническом заседании ФАО/ВОЗ. Эксперты не представили никаких дополнительных научных данных для обоснования мер контроля, предпринимаемых исходя из потенциальной опасности. Кроме того, на том же заседании были приняты требования по промыванию и охлаждению тушек птиц, а также меры по контролю розничной торговли и манипуляций, совершаемых потребителем. Были также признаны соответствующими количественные данные по мерам контроля, предпринимаемым исходя из потенциальной вероятной контаминации птицы патогенными бактериями.

В отношении вопросов по управлению риском, высказанных CCFH, обсуждалась целесообразность разработки веб-инструмента поддержки принятия решений по управлению риском. Создание такого инструмента признано следующим этапом работы над документом. Первичным применением данного инструмента будет демонстрация в упрощенном виде соответствующего влияния мер контроля, либо по их отдельности, либо в комбинации, на уменьшение риска возникновения алиментарных заболеваний и, вследствие этого, сокращение их количества. Это позволит странам оценивать эффективность имеющихся у них мер контроля, комбинировать их, используя риск-ориентированный подход. Инструмент принятия решений также будет очень полезен для отрасли при разработке планов НАССР и выборе радикальных мер, исходя из имеющейся опасности. Для разработки такого инструмента создана подгруппа, целью работы которой будет определение основных задач и проблем при моделировании, обсуждение преимуществ и ограничений различных подходов к моделированию.

¹ Явное отсутствие рецензируемых специалистами научных публикаций по эффективности конкретных мер, предпринимаемых в коммерческих стадах домашней птицы в целях обеспечения пищевой безопасности мяса бройлеров, необходимо рассматривать в общем контексте. Такие меры, широко используемые во многих странах, как часть национальных программ по контролю *Salmonella*, были связаны со значительным снижением превалентности патогенов на конечной стадии производства бройлеров. К таким странам относятся Финляндия, Швеция, Дания и Нидерланды, а эффективность их стратегий контроля описана в научных публикациях и в национальных отчетах, которые содержат данные по надзору за *Salmonella* у домашней птицы. См., например, Wegener et al., 2003; Majjala et al., 2005; Van der Fels-Klerx et al., 2009.

ЗДЕСЬ МОЖЕТ БЫТЬ ВАША СТАТЬЯ!

Журнал «Ветеринария сегодня» приглашает авторов для публикации своих научных работ

- Редакция «Ветеринарии сегодня» (<http://veterinary.arriah.ru/jour/index>) рассмотрит возможность публикации ваших научных статей на страницах журнала. Наша миссия – представление основных направлений развития ветеринарной науки, привлечение внимания мировых научных сообществ к актуальным проблемам и инновационным разработкам в области ветеринарии, формирование и развитие единого мирового научного знания.
- Мы публикуем статьи как выдающихся деятелей науки, так и молодых ученых, специалистов-практиков, работников ветеринарных учреждений для обмена опытом, обеспечения устойчивого ветеринарного благополучия и новых научных дискуссий.
- Журнал основан в 2012 г. на базе ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» («ВНИИЗЖ»). Статьи публикуются на двух языках: русском и английском. Тематическое содержание журнала меняется в зависимости от текущих задач науки и практики. Журнал распространяется по всей территории России, а также в крупнейших мировых научных центрах.

ЗАДАЧИ ЖУРНАЛА



Изучение основных тенденций развития ветеринарной науки



Анализ широкого круга передовых технологий в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных, представление результатов теоретических и экспериментальных исследований в данной области



Обсуждение актуальных вопросов ветеринарии

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫМ СТАТЬЯМ

- К публикации принимаются статьи на двух языках – русском и английском, – содержащие результаты собственных научных исследований, объемом до 6–8 страниц (до 10 страниц – для обзора) – но не менее 5 (при одинарном интервале и размере шрифта 12). Оптимальный объем статьи: до 20 тыс. знаков (включая пробелы).

Предоставление в редакцию рукописи статей является подтверждением согласия автора на использование его произведения как в бумажном, так и в электронном виде. Авторы несут ответственность за полноту и достоверность цитируемой в их работах литературы, а также за публикацию заимствованного материала без ссылки на источник. Материалы направляются в редакцию с сопроводительным письмом от организации автора (форма на сайте).

СТРУКТУРА ПРЕДСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ

1. УДК.
2. Название статьи.
3. Имя, отчество, фамилия автора.
4. Место работы автора, должность, ученая степень, адрес электронной почты.
5. Резюме (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы):
200–250 слов, но не более 2000 знаков.
6. Ключевые слова (5–6 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи.
7. Введение.
8. Материалы и методы.
9. Результаты и обсуждение.
10. Выводы или заключение.
11. Список литературы (т. е. список всей использованной литературы, ссылки на которую даются в самом тексте статьи). Формат оформления в соответствии с ГОСТ Р 7.05-2008. Не более 5–7 источников.
12. К размещению принимаются иллюстрированные материалы (фото, картинки) хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате .tif или .jpg (рисунки, не соответствующие требованиям, будут исключены из статей, поскольку достойное их воспроизведение типографским способом невозможно).

Работа должна быть представлена в редакторе WORD, формат DOC, шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12, межстрочный интервал – одинарный, размер полей – по 2 см, отступ в начале абзаца – 1 см, форматирование по ширине.

Рисунки, таблицы, схемы, графики и пр. должны быть обязательно пронумерованы, иметь источники и «вмещаться» в печатное поле страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком.

Оригиналы и копии присланных статей не возвращаются. Авторы должны гарантировать, что поданный материал не был ранее опубликован. Важным условием для принятия статей в журнал «Ветеринария сегодня» является выполнение всех вышеперечисленных требований редакции.

ПОДРОБНЕЕ ОБ УСЛОВИЯХ ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ ВЫ МОЖЕТЕ УЗНАТЬ В НАШЕЙ РЕДАКЦИИ

Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец

Телефоны: +7 (4922) 26-15-12, 26-17-65, 26-19-88, доб. 22-27

Контактное лицо: Лаврухина Ольга Игоревна, e-mail: lavruhina@arriah.ru

«Ветеринария сегодня» – это прекрасная возможность заявить о себе миру!



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

FGBI "FEDERAL CENTRE FOR ANIMAL HEALTH" (FGBI "ARRIAN")

Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуру
OIE Regional Reference Laboratory for Foot and Mouth Disease

**Референтная лаборатория МЭБ по высокопатогенному и низкопатогенному
гриппу птиц и ньюкаслской болезни**

The OIE Reference Laboratory for Highly Pathogenic Avian Influenza and Low Pathogenic
Avian Influenza (Poultry) and Newcastle Disease

**ОСНОВНЫМИ НАПРАВЛЕНИЯМИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ
ЦЕНТРА В ОБЛАСТИ БОРЬБЫ С БОЛЕЗНЯМИ
СВИНЕЙ ЯВЛЯЮТСЯ:**

разработка и внедрение в ветеринарную практику высокоэффективных лечебно-профилактических и диагностических препаратов против болезней свиней.

ФГБУ «ВНИИЗЖ»

ПРОИЗВОДИТ ВАКЦИНЫ:

- против инфекционных болезней свиней: пастереллеза, сальмонеллеза, гемофилезно-го полисерозита свиней, актинобациллезной плеввропневмонии свиней, репродуктивно-респираторного синдрома, парвовирусной инфекции, болезни Ауески и трансмиссивно-го гастроэнтерита свиней;
- против ящура всех типов.

ПРОВОДИТ ДИАГНОСТИКУ:

- диагностические исследования на ящур всех типов;
- диагностические исследования на наличие вируса АЧС и КЧС;
- выделение вируса болезни Ауески в культуре клеток;
- обнаружение респираторных болезней свиней;
- исследования на наличие коронавируса свиней;
- мониторинговые и скрининговые исследования инфекционных болезней свиней;

- дифференциальная диагностика желудочно-кишечных болезней;
- дифференциальная диагностика болезней свиней, протекающих с поражением центральной нервной системы.

**По вопросам проведения исследований
обращаться по телефону:
8 (4922) 26-15-25 (доб. 2135)**

Важным аспектом деятельности ФГБУ «ВНИИЗЖ» является оказание научно-методической и практической помощи ветеринарным специалистам лабораторий и животноводческих предприятий, разработка мероприятий для профилактики и ликвидации инфекционных болезней свиней. Ученые Центра ведут научное сопровождение продукции ФГБУ «ВНИИЗЖ» и непрерывную консультативную деятельность в хозяйствах. Учреждение осуществляет подготовку научных кадров – аспирантов и соискателей, обучение специалистов, стажеров и практикантов, а также проводит курсы повышения квалификации по вопросам диагностики, профилактики и мер борьбы с инфекционными болезнями животных.

**По вопросам приобретения
ветеринарных препаратов
производства ФГБУ «ВНИИЗЖ»
обращаться по телефонам:
8 (4922) 26-15-12, (4922) 26-15-25**