



ISSN 2304-196X (Print)
ISSN 2658-6959 (Online)

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



СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ
ГРИППА ПТИЦ В РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ В 2017–2018 ГОДАХ
с. 3

**SEROLOGICAL MONITORING
FOR AVIAN INFLUENZA IN THE RUSSIAN
FEDERATION IN 2017–2018**
p. 8



ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ
И ОПТИМИЗАЦИЯ РЕЖИМА
ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM
с. 12

**NUTRIENT MEDIUM SELECTION
AND OPTIMIZATION
OF *AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM*
DEEP CULTURE METHOD**
p. 12



ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР
ПО ЯЩУРУ В ПОПУЛЯЦИИ
ДИКИХ ЖИВОТНЫХ НА ПРИМЕРЕ
ЗАБАЙКАЛЬСКОГО КРАЯ
с. 17

**FOOT AND MOUTH DISEASE
EPIZOOTOLOGICAL
SURVEILLANCE IN WILD ANIMAL
POPULATION IN ZABAYKALSKY
KRAI (RUSSIA) AS EXAMPLE**
p. 24

Журнал «Ветеринария сегодня» включен в Перечень
рецензируемых научных изданий (ВАК):
03.02.02 – Вирусология (ветеринарные науки),
06.02.02 – Ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией
и иммунология (ветеринарные науки).

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ, ИЮНЬ №2 {29} 2019
VETERINARY SCIENCE TODAY, JUNE №2 {29} 2019

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 ИЭВ им. С. Н. Вышелеского, 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

Сидорчук А. А. — доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА имени К. И. Скрябина, г. Москва

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. Vyshelsky, 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

Sidorchuk A. A. — Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, K. I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow

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: Ирина Зверева

Design and composition: Maria Bondar
Proof-reader: Irina Zvereva

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 ВИАВ 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 ВНИИБП, г. Щелково

Samuylenko A. Ya. — Academician of the Russian Academy of Sciences, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, FGBNU VNITIBP, 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, член Коллегии (министр) по промышленности и агропромышленному комплексу Евразийской экономической комиссии

Subbotin A. M. — Doctor of Science (Biology), Professor, Member of the Board — Minister in charge of Industry and Agriculture of the Eurasian Economic Commission



Чвала И. А. — кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по НИР и мониторингу ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир

Chvala I. A. — Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), Deputy Head for Research and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir



Шахов А. Г. — доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАСХН, ГНУ «ВНИВИПФит», 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'evets, FGBI "ARRIAH"

Типография:

ООО «Полиграфический комплекс», 123298 г. Москва, ул. 3-я Хоросhevская, д. 18, корп. 1

Подписано в печать 18 июня 2019 года
Дата выхода 25.06.2019

Printing Office:

ООО "Poligrafichesky Complex" 123298 Moscow, 3-ya Khoroshevskaya ul. 18, build. 1

Approved for print 18 June 2019
Issued: 25.06.2019

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

- 3 М. А. Волкова, Ир. А. Чвала, П. С. Ярославцева, В. Ю. Сосипаторова, О. С. Осипова, И. А. Чвала
СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ГРИППА ПТИЦ
В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2017–2018 ГОДАХ
- 12 М. С. Фирсова, В. А. Евграфова, А. В. Потехин
ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И ОПТИМИЗАЦИЯ РЕЖИМА ГЛУБИННОГО
КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM*

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

- 17 В. В. Никифоров, Т. В. Вадопалас, Д. А. Лозовой,
Е. В. Кириллов, В. П. Семакина
ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ПО ЯЩУРУ В ПОПУЛЯЦИИ ДИКИХ
ЖИВОТНЫХ НА ПРИМЕРЕ ЗАБАЙКАЛЬСКОГО КРАЯ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

- 30 Д. В. Шарыпова, О. В. Капустина, И. Ю. Жуков,
Н. Н. Власова, А. С. Иголкин
РАЗРАБОТКА И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ
ДИАГНОСТИКИ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ МРС

- 35 А. Б. Сарбасов, Б. Л. Манин, Р. В. Яшин, И. Н. Шумилова, В. И. Диев
ИЗУЧЕНИЕ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСОВ ОСПЫ ОВЕЦ И ОСПЫ КОЗ
В ПЕРВИЧНЫХ И СУБКУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ
- 41 Б. Л. Манин, Л. В. Малахова, А. Б. Сарбасов, Н. В. Мороз
ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ В КЛЕТКАХ ЯДК-04 ПРИ
ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ВИРУСОМ ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

- 46 В. В. Макаров, Н. Я. Махамат
ГЛОБАЛЬНАЯ ЭПИЗООТОЛОГИЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ.
3. ИНДЕКС ОЧАГОВОСТИ
- 50 М. А. Шибайев, А. С. Оганесян, А. В. Бельчихина, К. Н. Груздев, А. К. Караулов
РЕТРОСПЕКТИВНАЯ ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ КОНТРОЛЯ ЗА ПОЛНОТОЙ
И КАЧЕСТВОМ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ВЕТЕРИНАРНЫМИ СЛУЖБАМИ
СУБЪЕКТОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПЕРЕДАННЫХ ИМ ПОЛНОМОЧИЙ
- 56 О. А. Муллағалиева, Е. Н. Закрепина
КОРРЕКТИРОВКА НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА
ЛОШАДИ ПРОБИОТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТОМ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ
АНТИГЕЛЬМИНТИКА ИЗ ГРУППЫ МАКРОЦИКЛИЧЕСКИХ ЛАКТОНОВ
- 60 И. В. Бородинкина, Н. Б. Шадрова, О. В. Прунтова, С. И. Данильченко
ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ МЕТОДИКИ ВЫДЕЛЕНИЯ *YERSINIA*
ENTEROCOLITICA В СЫРЬЕ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

РЕЦЕНЗИИ

- 66 РЕЦЕНЗИЯ НА МОНОГРАФИЮ В. С. РУСАЛЕЕВА, О. В. ПРУНТОВОЙ,
Д. А. ЛОЗОВОГО «АКТИНОБАЦИЛЛЕЗНАЯ ПЛЕВРОПНЕВМОНИЯ СВИНЕЙ». –
ВЛАДИМИР: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2018. – 134 С.: ИЛ. ISBN 978-5-900026-63-3

НОВОСТИ

- 67 ПАМЯТИ ВЫДАЮЩЕГОСЯ УЧЕНОГО, ВЕТЕРИНАРНОГО ВРАЧА И ПЕДАГОГА
ВАЛЕРИЯ ПЕТРОВИЧА УРБАНА
- 68 ПРЕСС-РЕЛИЗ ФАО: «ПРОЕКТ ПО УПРАВЛЕНИЮ ЖИЗНЕННЫМ ЦИКЛОМ
ПЕСТИЦИДОВ И УТИЛИЗАЦИИ ПЕСТИЦИДОВ, ОТНОСИМЫХ К ЧИСЛУ
СТОЙКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ (СОЗ)»

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

- 8 M. A. Volkova, Ir. A. Chvala, P. S. Yaroslavl'tseva, V. Yu. Sosipatorova,
O. S. Osipova, I. A. Chvala
SEROLOGICAL MONITORING FOR AVIAN INFLUENZA IN THE RUSSIAN
FEDERATION IN 2017–2018
- 12 M. S. Firsova, V. A. Yevgrafova, A. V. Potekhin
NUTRIENT MEDIUM SELECTION AND OPTIMIZATION
OF *AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM* DEEP CULTURE METHOD

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 24 V. V. Nikiforov, T. V. Vadopalas, D. A. Lozovoy, E. V. Kiriltsov, V. P. Semakina
FOOT AND MOUTH DISEASE EPIZOOTOLOGICAL SURVEILLANCE IN WILD
ANIMAL POPULATION IN ZABAYKALSKY KRAI (RUSSIA) AS EXAMPLE

ORIGINAL ARTICLES | PORCINE DISEASES

- 30 D. V. Sharypova, O. V. Kapustina, I. Yu. Zhukov, N. N. Vlasova, A. S. Igolkin
DEVELOPMENT AND IMPROVEMENT OF ASF SEROLOGICAL DIAGNOSTIC
TECHNIQUES

ORIGINAL ARTICLES | SMALL RUMINANTS DISEASES

- 35 A. B. Sarbasov, B. L. Manin, R. V. Yashin, I. N. Shumilova, V. I. Diev
TESTING SHEEP AND GOAT POX VIRUSES FOR THEIR REPRODUCTION
IN PRIMARY AND SUBCULTURED CELLS
- 41 B. L. Manin, L. V. Malakhova, A. B. Sarbasov, N. V. Moroz
CYTOMORPHOLOGICAL TRANSFORMATIONS IN YADK-04 CELLS
DURING INTERACTION WITH PESTE DE PETITS RUMINANTS VIRUS

ORIGINAL ARTICLES | GENERAL ISSUES

- 46 V. V. Makarov, N. Ya. Makhamat
GLOBAL ANTHRAX EPIZOOTOLOGY. 3. THE INDEX OF NIDALITY
- 50 M. A. Shibayev, A. S. Oganessian, A. V. Belchikhina, K. N. Gruzdev, A. K. Karaulov
RETROSPECTIVE ASSESSMENT OF CONTROL RESULTS WITH REGARD TO
COMPLETENESS AND QUALITY OF IMPLEMENTATION BY VETERINARY SERVICES
OF THE SUBJECTS OF THE RUSSIAN FEDERATION OF POWERS TRANSFERRED
TO THEM
- 56 O. A. Mullagaliyeva, Ye. N. Zakrepina
IMPROVING SOME PARAMETERS OF ANTIBODY RESPONSE
IN HORSES BY PROBIOTIC AGENTS AGAINST BACKGROUND USE
OF MACROCYCLIC LACTONE ANTHELMINTIC
- 60 I. V. Borodkina, N. B. Shadrova, O. V. Pruntova, S. I. Danilchenko
VALIDATION OF METHOD FOR *YERSINIA ENTEROCOLITICA* ISOLATION FROM
RAW MATERIALS OF ANIMAL ORIGIN

REVIEWS

- 66 PEER-REVIEW OF MONOGRAPH OF V. S. RUSALEYEV, O. V. PRUNTOVA,
D. A. LOZOVY “ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE IN PIGS”. –
VLADIMIR: FGBI “ARRIAH”, 2018. – 134 P.: IL. ISBN 978-5-900026-63-3

NEWS

- 67 IN MEMORY OF EMINENT SCIENTIST,
VETERINARIAN AND PROFESSOR VALERY PETROVICH URBAN
- 68 FAO PRESS RELEASE “NATIONAL INCEPTION WORKSHOP: LIFECYCLE
MANAGEMENT OF PESTICIDES AND DISPOSAL OF POPS (PERSISTENT
ORGANIC POLLUTANTS) PESTICIDES IN KYRGYZSTAN”

СЕРОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ГРИППА ПТИЦ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2017–2018 ГОДАХ

М. А. Волкова¹, И. А. Чвала², П. С. Ярославцева³, В. Ю. Сосипаторова⁴, О. С. Осипова⁵, И. А. Чвала⁶

¹ Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: volkovama@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-7674-639X

² Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: chvala_ia@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-5846-1262

³ Научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: yaroslavtseva@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-0383-9912

⁴ Младший научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: sosipatorova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-9376-4728

⁵ Ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: osipova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-3176-157X

⁶ Заместитель директора, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: chvala@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1659-3256

РЕЗЮМЕ

Грипп птиц – высококонтагиозное вирусное заболевание птиц, подлежащее нотификации Всемирной организации здравоохранения животных, наносящее огромный экономический ущерб и представляющее большую угрозу птицеводческим хозяйствам мира. В рамках мониторинговых мероприятий, проводимых Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору Российской Федерации, в референтную лабораторию вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) в период с 2017 по 2018 год было доставлено 60 697 проб сыворотки крови от домашних и 581 проба от диких и синантропных птиц из 34 регионов РФ. В результате лабораторных исследований антитела к вирусу гриппа типа А были выявлены в личных подсобных хозяйствах граждан Смоленской области и Республики Крым, гриппа А/Н5 – в Алтайском крае, Ростовской и Калининградской областях, к вирусу гриппа А/Н9 – в Приморском крае. Антитела к вирусу гриппа А/Н9 также были выявлены у невакцинированных кур в двух птицеводческих предприятиях Приморского края в 2018 году. В личных подсобных хозяйствах граждан субъектов Российской Федерации, где проводится плановая вакцинопрофилактика гриппа птиц А/Н5, установлен недостаточный уровень иммунитета. Полученные результаты свидетельствуют о циркуляции вируса гриппа в популяциях птиц Российской Федерации и сохранении риска заноса и распространения гриппа птиц в промышленных птицеводческих хозяйствах и личных подсобных хозяйствах граждан.

Ключевые слова: грипп птиц, эпизоотология, мониторинг, домашняя птица, дикая птица.

ВВЕДЕНИЕ

Грипп птиц – контагиозное вирусное заболевание домашних и диких птиц, характеризующееся в первую очередь поражением органов дыхания и пищеварения [2]. Возбудителем заболевания является вирус гриппа типа А, принадлежащий к роду *Influenzavirus* семейства *Orthomyxoviridae*. Высокопатогенные штаммы вируса гриппа птиц вызывают генерализованную форму болезни с высокой смертностью (до 100%), сопровождаемую кровоизлияниями и воспалительными процессами во внутренних органах, коже и ее производных. Высокопатогенный и низкопатогенный грипп птиц у домашней птицы, вызываемый подтипами Н5 и Н7, относятся к заболеваниям, подлежащим обязательному уведомлению Всемирной организации здравоохранения животных [2, 3]. Экономический ущерб от

гриппа птиц чрезвычайно велик, поскольку в местах возникновения вспышки все восприимчивое поголовье подлежит уничтожению. Первоначально высокопатогенный вирус гриппа А/Н5N1 был выделен от домашних гусей на одной из ферм в провинции Guangdong Южного Китая в 1996 г. Неблагополучная ситуация по высокопатогенному гриппу птиц наблюдается уже в течение многих лет в странах Дальнего Востока, в том числе Юго-Восточной Азии. В последние годы наблюдается тенденция широкого распространения вирусов подтипа Н5 с нейраминидазами различных подтипов в различных странах Азии, Европы и Африки [1, 4–7]. Россия связана миграционными путями диких птиц как с европейскими, так и с азиатскими странами, поэтому вероятность заноса высоко- и низковирулентного

Таблица 1

Результаты выявления антител к вирусу гриппа птиц в сыворотках крови птиц промышленных предприятий в РТГА и ИФА

Федеральный округ РФ	Субъект РФ	Количество исследованных проб		Количество положительных проб	
		2017	2018	2017	2018
Центральный	Владимирская область	1714 (5) ¹	1132 (5)	0	0
	Ивановская область	2417 (3)	1004 (1)	0	0
	Костромская область	2014 (6)	1073 (5)	0	0
Дальневосточный	Приморский край	925 (5)	1370 (4)	174 (2) ²	176 (2) ² 411 (2) ³
	Амурская область	920 (5)	1660 (1)	0	404 (1) ³
	Хабаровский край	380 (2)	50 (2)	0	0
	Сахалинская область	н/и	750 (1)	н/и	0
Приволжский	Нижегородская область	2310 (7)	2025 (7)	0	0
	Саратовская область	609 (5)	500 (1)	0	0
	Самарская область	н/и	180 (3)	н/и	0
	Республика Марий Эл	250 (1)	920 (6)	0	0
	Кировская область	н/и	120 (2)	н/и	0
	Республика Башкортостан	н/и	612 (5)	н/и	0
	Республика Татарстан	н/и	810 (5)	н/и	0
	Республика Удмуртия	н/и	600 (5)	н/и	0
Северо-Кавказский	Ставропольский край	1940 (6)	2388 (6)	0	0
Сибирский	Алтайский край и Республика Алтай	955 (5)	500 (4)	0	0
	Красноярский край	1385 (7)	1016 (7)	0	0
	Республика Тыва	н/и	300 (1)	н/и	0
Северо-Западный	Калининградская область	580 (3)	400 (2)	0	0
Южный	Астраханская область	861 (2)	772 (4)	0	0
	Краснодарский край	1836 (9)	1855 (6)	0	0
	Ростовская область	107 (3)	340 (4)	0	0
	Волгоградская область	1072 (3)	3022 (2)	0	0
ИТОГО		20 275 (77)	23 399 (89)	174²	176² 815³

¹ В скобках указано количество хозяйств;² постинфекционные антитела;³ поствакцинальные антитела;

н/и – не исследовали.

вирусов гриппа птиц на территорию Российской Федерации по-прежнему очень высока [1, 8]. По данным срочных сообщений ветслужб субъектов РФ в 2017 г., выявление высокопатогенного вируса гриппа птиц подтипа H5 (более 30 случаев) в стадах домашних птиц было зарегистрировано в 9 регионах: Ростовской, Московской, Нижегородской, Костромской и Самарской областях, республиках Татарстан, Марий Эл, Удмуртия, а также Чеченской Республике. В Краснодарском крае и Калининградской области установлены случаи гриппа у диких мигрирующих птиц, в Воронежской области – в зоопарке. В 2018 г. было зарегистрировано 15 неблагополучных по гриппу птиц регионов. Вирус гриппа птиц подтипа H5 был обнаружен у домашних птиц из

Курской, Орловской, Воронежской, Костромской, Смоленской, Саратовской, Самарской, Ульяновской, Пензенской, Нижегородской, Ростовской областей, республик Удмуртия, Марий Эл, Чувашия и Татарстан (более 80 случаев).

Для высокопроизводительного скрининга инфекции гриппа А используют иммуноферментные (ИФА) наборы для обнаружения антител, специфичных к вирусу гриппа птиц типа А. В случае получения положительных результатов необходимо провести субтипирование в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Указанные методы также применяют с целью определения иммунного статуса поголовья после вакцинации. Вакцинация против вируса гриппа А/H9N2 применялась в Азии и на Среднем Востоке [9, 10]. В последние годы профилактическая вакцинация против гриппа А/H5N1 разрешена в некоторых странах Евросоюза для домашней птицы выгульного содержания и зоопарко-

вых птиц [3]. Вакцинация птиц против гриппа А в России определяется «Правилами по борьбе с гриппом птиц» в редакции Приказа МСХ РФ № 195 от 06.07.2006.

Для обеспечения устойчивого эпизоотического благополучия страны необходим постоянный контроль и надзор за инфекционными заболеваниями, в том числе гриппом птиц.

В работе представлены результаты серологического мониторинга по гриппу птиц на территории Российской Федерации, проведенного в 2017–2018 гг. в рамках реализации мероприятий Россельхознадзора по диагностике и профилактике особо опасных болезней животных, направленных на обеспечение охраны территории страны от заноса из иностранных государств и распространения болезней животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биологический материал (сыворотки крови птиц) предоставлен для исследования территориальными управлениями Россельхознадзора. Исследования проводили с использованием коммерческих наборов производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» согласно инструкции производителя и диагностических препаратов (антигены и сыворотки) производства GD (Нидерланды) и IZSve (Италия) по стандартной методике [3]. Результат исследования в РТГА считался положительным, если титр сыворотки составлял $4,0 \log_2$ и выше. ИФА-наборы использовали для тестирования сывороток крови кур, РТГА-наборы – для исследования сывороток крови домашних птиц (кур, индеек, уток, гусей, перепелов, цесарок), диких и синантропных птиц. Поступившие для исследования сыворотки крови инаktivировали при температуре 56 °C в течение 30 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основная цель серологических мониторинговых исследований по гриппу А среди домашней птицы – контроль невакцинированных стад на отсутствие инфекции, выявление циркуляции полевых вирусов, отличных от вакцинных штаммов, а также контроль поствакцинального иммунитета у вакцинированного поголовья.

В течение 2017 г. методами ИФА и РТГА было исследовано 20 275 проб сыворотки крови птиц, доставленных из 77 птицефабрик 17 субъектов РФ (табл. 1).

Антитела к вирусу гриппа А/Н9 были обнаружены в 174 пробах от вакцинированных против гриппа кур (гомологичного подтипа) из 2 хозяйств Приморского края. Из всех видов домашней птицы, которые были представлены в мониторинговых исследованиях в 2017 г., большинство составляли куры (99,3%). Из других видов были представлены индейки, гуси, утки и перепела.

В 2018 г. область исследований была несколько расширена. Было исследовано 23 399 проб сыворотки крови птиц (куры, индейки, утки, гуси) из 89 птицеводческих хозяйств промышленного типа 24 субъектов РФ. Антитела к вирусу гриппа А/Н9 были обнаружены в 176 пробах сыворотки крови от невакцинированных против гриппа птиц кур двух хозяйств из Приморского края и в 815 пробах от вакцинированных кур из Амурской области (1 птицефабрика) и Приморского края (2 птицефабрики) (гомологичные вакцинному штамму).

В 2017–2018 гг. были проведены мониторинговые исследования среди домашних птиц личных подсоб-

ных (ЛПХ) и коллективных фермерских (КФХ) хозяйств (табл. 2). Более 92% исследованных проб было от кур, 4–5% – от уток, и оставшееся количество проб представлено другими видами (гуси, индейки, перепела и цесарки).

В 2017 г. было исследовано 9908 проб сыворотки крови от домашних птиц из 16 регионов РФ. Антитела к вирусу гриппа А/Н5 были выявлены в 304 пробах от вакцинированных против гриппа кур из Астраханской и Ростовской областей, Чеченской Республики, республик Дагестан, Ингушетия и Адыгея. Антитела к вирусу гриппа А/Н5 были выявлены также в пробах от невакцинированных против гриппа кур из частных подворий Ростовской и Калининградской областей (в 14 и 5 пробах соответственно). В ИФА было обнаружено 7 положительных на грипп А проб, доставленных из Республики Крым.

В 2018 г. было исследовано 7415 проб сывороток крови от кур, индеек, уток, гусей, перепелов и цесарок из 14 субъектов РФ (табл. 2). Специфические антитела у вакцинированных против гриппа домашних птиц (куры, перепела, цесарки) были выявлены в 550 пробах из 3 субъектов РФ: Астраханской и Ростовской областей и Чеченской Республики (подтип Н5). Постинфекционные антитела были обнаружены в РТГА у непривитых кур из Алтайского и Приморского (подтипы Н5 и Н9 соответственно) краев и в ИФА в одной пробе от курицы из Смоленской области. Наличие антител к вирусу гриппа птиц подтипов Н5 и Н7 в положительных на тип А пробах из Республики Крым и Смоленской области было исключено методом РТГА. Результаты обнаружения специфических антител к вирусу гриппа подтипов Н5 и Н9 у невакцинированных птиц были представлены в территориальные управления Россельхознадзора для принятия соответствующих мер. За время наблюдений специфические антитела к вирусу гриппа А/Н5 у уток и гусей промышленного и частного сектора не выявляли.

На рисунке представлено географическое расположение регионов РФ, в которых у домашних птиц были выявлены постинфекционные и поствакцинальные антитела к вирусу гриппа птиц.

Обнаружение антител к вирусу гриппа птиц у кур промышленного сектора и из личных хозяйств можно объяснить циркуляцией слабовирулентных штаммов, которые вызывают респираторно-кишечные расстройства различной тяжести и не связаны с массовой гибелью птицы. Однако циркуляция подобных штаммов является питательной средой для селекции/мутации и появления высоковирулентных штаммов вируса гриппа птиц.

Следует отметить низкий уровень поствакцинального иммунитета у привитых кур из ЛПХ. По данным сопроводительных документов, вакцинация проводилась инаktivированными вакцинами, содержащими антиген вируса гриппа А/Н5, при этом поствакцинальные антитела были обнаружены менее чем у 50% привитого поголовья.

Природным резервуаром вируса гриппа птиц являются дикие птицы как водного, так и наземного экологических комплексов. Мигрирующие дикие птицы в большинстве случаев могут быть начальным источником инфекции, что представляет собой угрозу дальнейшего заноса инфекции в стада сельскохозяйственных птиц и распространения болезни в благополучных регионах.

Таблица 2

Результаты выявления антител к вирусу гриппа птиц в сыворотках крови птиц ЛПХ и КОХ в ИФА и РТГА

Федеральный округ РФ	Субъект РФ	Количество исследованных проб		Количество положительных проб	
		2017	2018	2017	2018
Центральный	Владимирская область	142	342	0	0
	Смоленская область	н/и	6	н/и	1 ¹
Приволжский	Республика Татарстан	н/и	200	н/и	0
	Нижегородская область	90	н/и	0	н/и
	Самарская область	н/и	384	н/и	0
	Чувашская Республика	н/и	22	н/и	0
Северо-Западный	Калининградская область	805	110	5 ¹	0
Сибирский	Алтайский край	45	500	0	22 ¹
Дальневосточный	Забайкальский край	1066	388	0	0
	Приморский край	100	3	0	2 ¹
	Хабаровский край	620	н/и	0	н/и
Северо-Кавказский	Республика Дагестан	291	500	19 ²	0
	Карачаево-Черкесская Республика	120	н/и	0	н/и
	Республика Ингушетия	225	500	2 ²	0
	Чеченская Республика	1139	500	138 ²	248 ²
Южный	Астраханская область	1471	1324	118 ²	124 ²
	Адыгейская Республика	176	н/и	2 ²	н/и
	Ростовская область	2341	2636	14 ¹ 25 ²	177 ²
	Волгоградская область	1000	н/и	0	н/и
	Республика Крым	277	н/и	7 ¹	н/и
ИТОГО		9908	7415	26 ¹ 304 ²	25 ¹ 550 ²

¹ постинфекционные антитела;² поствакцинальные антитела;

н/и – не исследовали.

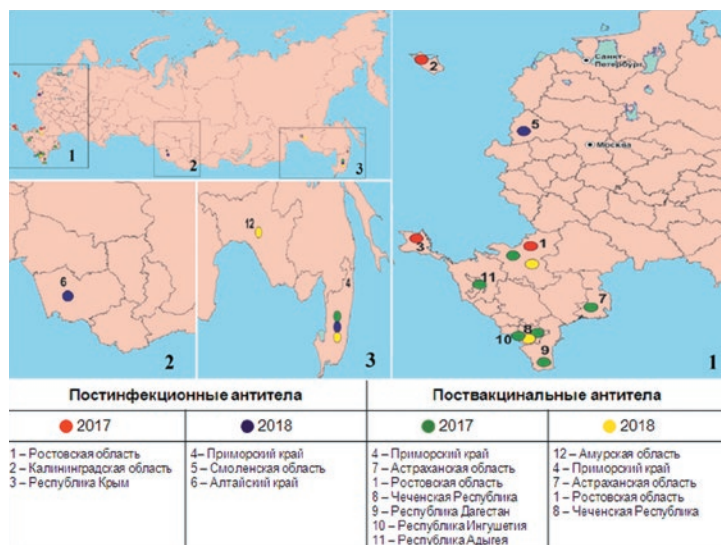


Рис. Регионы РФ, в которых у домашних птиц выявлены антитела к вирусу гриппа птиц в ходе мониторинговых исследований 2017–2018 гг.

В 2017–2018 гг. из 4 регионов РФ было доставлено для исследования 314 и 266 проб сыворотки крови от диких и синантропных птиц соответственно. Полученные результаты представлены в таблице 3. В группу синантропных птиц включены виды, чье место обитания и образ жизни связан с человеком и его жильем. Антитела к вирусу гриппа птиц подтипа H5 и H7 в 581 пробе сыворотки крови, исследованной с помощью РТГА, выявлены не были.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Непрерывное появление и широкое распространение высокопатогенного гриппа птиц в мире представляет серьезную угрозу для сельскохозяйственных птиц. Вероятность заражения гриппом птиц на птицеводческих предприятиях закрытого типа может быть минимизирована при строгом соблюдении ветеринарно-санитарных норм и высоком уровне биологической защиты. Наибольшую опасность в птицеводстве грипп птиц представляет для личных подсобных хозяйств и мелких товарных ферм с выгульным способом содержания птиц, которые напрямую могут контактировать с дикими и синантропными птицами (источниками инфекции). Поэтому сохраняется необходимость в продолжении

Таблица 3

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

Субъект РФ	Вид птицы	Количество исследованных проб*	
		Подтип H5	Подтип H7
Нижегородская область (2017 г.)	синантропные птицы (сизый голубь, грач, ворона, галка)	0/40	0/40
	птицы водного комплекса (дикие утки и гуси)	0/53	0/53
	птицы полей и лесов (тетерев, вальдшнеп)	0/6	0/6
Красноярский край (2017 г.)	синантропные птицы (сизый голубь)	0/130	0/130
	птицы водного комплекса (кряква, свиязь, чирок-свиистунок)	0/20	0/20
	дикие птицы лугов, полей, болот (бекас, северная бормотушка, лесной дупель, черноголовый чекан, желтая трясогузка, полевой воробей)	0/90	0/90
	дикие птицы лесов (лесной конек, гаичка, вальдшнеп, вертишейка, поползень, дрозд-дереяба, буроголовая гаичка)	0/60	0/60
Республика Тыва (2017 г.)	птицы водного и околотоводного комплекса (чомга, серая утка, красноклювый нырок, баклан, крачка, серебристая чайка, озерная чайка)	0/31	0/31
Самарская область (2018 г.)	дикие птицы (дикая утка и др.)	0/55	0/55
	синантропные птицы (голуби и др.)	0/96	0/96
ВСЕГО		0/581	0/581

*Количество положительных из общего количества проб.

и увеличении количества серологических исследований по гриппу птиц в рамках государственного эпизоотологического мониторинга как одного из необходимых составляющих системы контроля, предупреждения и прогнозирования возникновения заболевания гриппом птиц на территории Российской Федерации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Обзор ситуации по высокопатогенному вирусу гриппа птиц субтипа H5 в России в 2016–2017 гг. / В. Ю. Марченко, И. М. Сулопаров, В. Э. Игнатьев [и др.] // Проблемы особо опасных инфекций. – 2018. – № 1. – С. 30–35; DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-30-35.
- Alexander D. J. An overview of the epidemiology of avian influenza // Vaccine. – 2007. – Vol. 25 (30). – P. 5637–5644; DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.10.051.
- Avian influenza // Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals / OIE. – 7nd ed. – Paris, 2012. – Vol. 1, Chap. 2.3.4. – P. 436–452.
- Global and local persistence of influenza A (H5N1) virus / X. Li, Z. Zhang, A. Yu [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2014. – Vol. 20 (8). – P. 1287–1295; DOI: 10.3201/eid2008.130910.
- Highly pathogenic avian influenza virus (H5N8) in domestic poultry and its relationship with migratory birds in South Korea during 2014 / J. Jeong, H. M. Kang, E. K. Lee [et al.] // Vet. Microbiol. – 2014. – Vol. 173 (3–4). – P. 249–257; DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.08.002.
- Highly pathogenic H7N7 avian influenza in Italy / L. Bonfanti, I. Monne, M. Tamba [et al.] // Vet. Rec. – 2014. – Vol. 174 (15). – P. 382–385; DOI: 10.1136/vr.102202.
- Influenza A (H5N8) virus similar to strain in Korea causing highly pathogenic avian influenza in Germany / T. Harder, S. Maurer-Stroh, A. Pohlmann [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2015. – Vol. 21 (5). – P. 860–863; DOI: 10.3201/eid2105.141897.
- Isolation and characterization of H5Nx highly pathogenic avian influenza viruses of clade 2.3.4.4 in Russia / V. Marchenko, N. Goncharova, I. Susloparov [et al.] // Virology. – 2018. – Vol. 525. – P. 216–223; DOI: 10.1016/j.virol.2018.09.024.
- Swayne D. E. Impact of vaccines and vaccination on global control of avian influenza // Avian Dis. – 2012. – Vol. 56 (Suppl 4). – P. 818–828; DOI: 10.1637/10183-041012-Review.1.
- Swayne D., Kapczynski D. Vaccines, vaccination, and immunology for avian influenza viruses in poultry // Avian Influenza / ed. D. E. Swayne. – Ames, Iowa, 2008. – P. 407–451; DOI: 10.1002/9780813818634.ch19.

Поступила 21.03.19

Принята в печать 14.05.19

SEROLOGICAL MONITORING FOR AVIAN INFLUENZA IN THE RUSSIAN FEDERATION IN 2017–2018

M. A. Volkova¹, Ir. A. Chvala², P. S. Yaroslavl'tseva³, V. Yu. Sosipatorova⁴, O. S. Osipova⁵, I. A. Chvala⁶

¹ Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: volkovama@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-7674-639X

² Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: chvala_ia@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-5846-1262

³ Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: yaroslavl'tseva@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-0383-9912

⁴ Junior Researcher, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: sosipatorova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-9376-4728

⁵ Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: osipova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-3176-157X

⁶ Deputy Head, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: chvala@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1659-3256

SUMMARY

Avian influenza is a highly contagious avian viral disease notifiable to the World Organization for Animal Health that causes huge economic losses and poses a great threat to poultry farms worldwide. A total of 60,697 serum samples from poultry and 581 serum samples from wild and synanthropic birds were submitted to the Reference Laboratory for Avian Viral Diseases of the FGBI "ARRIAH" (Vladimir) from 34 regions in 2017–2018 in the framework of monitoring carried out by the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance of the Russian Federation. Antibodies to type A avian influenza virus were detected with laboratory tests in backyard poultry in the Smolensk Oblast and Republic of Crimea, antibodies to A/H5 AIV were found in backyard poultry in the Altai Krai, Rostov and Kaliningrad Oblasts, antibodies to A/H9 AIV were found in backyard poultry in the Primorsky Krai. Antibodies against A/H9 AIV were also detected in non-vaccinated chickens kept at two poultry establishments located in the Primorsky Krai in 2018. The immunity in backyard poultry in the Russian Federation Subjects covered by scheduled preventive vaccination against A/H5 AIV was found to be insufficient. Obtained test results indicated that the virus circulation in bird populations in the Russian Federation and persistent risk of avian influenza spread to poultry establishments and backyard poultry.

Key words: avian influenza, epidemiology, monitoring, poultry, wild birds.

INTRODUCTION

Avian influenza is a highly contagious viral disease of poultry and wild birds characterized with primarily respiratory and alimentary tract lesions [2]. The disease is caused by type A avian influenza virus (AIV) belonging to *Influenzavirus* genus of *Orthomyxoviridae* family. Highly pathogenic AI virus strains are responsible for systemic disease with high mortality (up to 100%) characterized by hemorrhages and inflammations in internal organs, skin and its derivatives. Highly pathogenic and low pathogenic avian influenza in poultry caused by H5 and H7 is notifiable to the World Organization for Animal Health [2, 3]. Economic losses caused by avian influenza are huge since all susceptible poultry in the disease outbreak area shall be stamped out. Initially, A/H5N1 highly pathogenic avian influenza virus was isolated from domestic geese kept on a farm located in Guangdong province, South China, in 1996. Far Eastern countries including South-Eastern Asian countries have remained HPAI-affected for many years. Recently, H5 viruses containing neuraminidases of different subtypes have tended to widespread across various European, Asian and African countries [1, 4–7]. Russia is connected with

wild bird migration routes both with European and Asian countries so the risk of highly and low pathogenic avian influenza virus introduction to the Russian Federation territory remains very high [1, 8]. According to immediate notifications provided by the Veterinary Services of the RF Subjects in 2017, H5 highly pathogenic avian influenza (more than 30 cases) was detected in poultry in 9 regions: Rostov, Moscow, Nizhny Novgorod, Kostroma and Samara Oblasts, Republics of Tatarstan, Mariy-El, Udmurtia as well as in Chechen Republic. AI cases were reported in wild migratory birds in the Krasnodar Krai and Kaliningrad Oblast and in the zoo in the Voronezh Oblast. In 2018, AIV infection was reported in 15 regions. H5 avian influenza virus was detected in poultry in the Kursk, Oryol, Voronezh, Kostroma, Smolensk, Saratov, Samara, Ulyanovsk, Penza, Nizhny Novgorod, Rostov Oblasts, Republics of Mariy-El, Udmurtia, Chuvashia and Tatarstan (more than 80 cases).

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test kits for detection of type A AIV-specific antibodies are used for high-throughput screening for type A AIV infection. In case of positive results, subtyping shall be performed with hemagglutination inhibition (HI) test. The said methods are used for determination of poultry postvaccinal immune status. Anti-A/H5N1 AIV vaccination was carried out in Asia and in the Middle East [9, 10]. Recently, anti-A/H5N1 AIV vaccination of outdoor poultry and zoo birds has been permitted in some EU Member States [3]. In Russia, vaccination against type A avian influenza is performed in accordance with Rules for avian influenza control as amended by the Order of the RF Ministry of Agriculture No. 195 of July 6, 2006.

Permanent control and surveillance of infectious animal diseases including avian influenza is required for maintaining sustainable epidemic freedom of the country.

Results of AI serological monitoring carried out in the Russian Federation in 2017–2018 within the framework of the Rosselkhoz nadzor measures for highly dangerous animal disease diagnosis and prevention taken for the RF territory protection from animal disease introduction and spread are presented in the paper.

MATERIALS AND METHODS

Biological materials (sera from birds) were submitted for testing by the Rosselkhoz nadzor Territorial Administrations. Tests were carried out with commercial test-kits

Table 1**Results of HI and ELISA tests of sera from poultry kept at poultry establishments for antibodies against avian influenza virus**

Federal Okrug of the Russian Federation	RF Subject	Number of tested samples		Number of positives	
		2017	2018	2017	2018
Central	Vladimir Oblast	1,714 (5) ¹	1,132 (5)	0	0
	Ivanovo Oblast	2,417 (3)	1,004 (1)	0	0
	Kostroma Oblast	2,014 (6)	1,073 (5)	0	0
Far-East	Primorsky Krai	925 (5)	1,370 (4)	174 (2) ²	176 (2) ² 411 (2) ³
	Amur Oblast	920 (5)	1,660 (1)	0	404 (1) ³
	Khabarovsk Krai	380 (2)	50 (2)	0	0
	Sakhalin Oblast	n/t	750 (1)	n/t	0
Volga	Nizhny Novgorod Oblast	2,310 (7)	2,025 (7)	0	0
	Saratov Oblast	609 (5)	500 (1)	0	0
	Samara Oblast	n/t	180 (3)	n/t	0
	Republic of Mariy El	250 (1)	920 (6)	0	0
	Kirov Oblast	n/t	120 (2)	n/t	0
	Republic of Bashkortostan	n/t	612 (5)	n/t	0
	Republic of Tatarstan	n/t	810 (5)	n/t	0
	Republic of Udmurtia	n/t	600 (5)	n/t	0
North-Caucasian	Stavropol Krai	1,940 (6)	2,388 (6)	0	0
Siberian	Altai Krai and Republic of Altai	955 (5)	500 (4)	0	0
	Krasnoyarsk Krai	1,385 (7)	1,016 (7)	0	0
	Republic of Tyva	n/t	300 (1)	n/t	0
North-West	Kaliningrad Oblast	580 (3)	400 (2)	0	0
South	Astrakhan Oblast	861 (2)	772 (4)	0	0
	Krasnodar Krai	1,836 (9)	1,855 (6)	0	0
	Rostov Oblast	107 (3)	340 (4)	0	0
	Volgograd Oblast	1,072 (3)	3,022 (2)	0	0
TOTAL		20,275 (77)	23,399 (89)	174²	176² 815³

¹ Number of establishments is given in brackets;² post-infection antibodies;³ postvaccinal antibodies;

n/t – not tested.

manufactured by the FGBI "ARRIAH" and used according to the manufacturer's instruction as well as with diagnostica (antigens and sera) manufactured by GD (Netherlands) and IZSVE (Italy) using standard methods [3]. HI test results were considered positive when serum titre was 4.0 log₂ or higher. ELISA test-kits were used for testing chicken sera; HI test-kits were used for testing poultry sera (chickens, turkeys, ducks, geese, quails, guinea fowl), wild and synanthropic bird sera. Submitted sera were inactivated at temperature of 56 °C for 30 min.

RESULTS AND DISCUSSION

Type A AI serological monitoring tests in poultry are aimed at following: control of non-vaccinated flocks for infection, detection of circulation of the field viruses distinct from vaccine virus strains as well as control of vaccinated poultry for postvaccinal immunity.

In 2017, 20,275 sera submitted from 77 poultry establishments located in 17 RF Subjects were tested with ELISA and HI (Table 1).

Anti-A/H9 AIV antibodies were detected in 174 samples collected from chickens vaccinated against avian influenza (antibodies against homologous virus subtype) at two establishments located in the Primorsky Krai. The majority out of all poultry species covered by monitoring tests in 2017 were chickens (99.3%). The poultry of other species were also tested: turkeys, geese, ducks and quails.

In 2018, the testing coverage was slightly expanded: 23,399 serum samples from poultry (chickens, turkeys, ducks, geese) from 89 poultry establishments located in 24 RF Subjects were tested. Anti-A/H9 AIV antibodies were detected in 176 serum samples collected from non-vaccinated chickens kept at two establishments located in the Primorsky Krai and in 815 serum samples collected from vaccinated chickens kept in the Amur Oblast (1 poultry establishment) and Primorsky Krai (2 poultry establishments) (antibodies against homologous vaccine virus strain).

In 2017–2018, monitoring tests were carried out in backyard poultry and on small poultry farms (Table 2). More than 92% of tested samples were collected from chickens, 4–5% – from ducks and the rest samples – from other poultry species (geese, turkeys, quails and guinea fowl).

In 2017, tests of 9,908 serum samples from poultry kept in 16 regions of the Russian Federation were carried out.

Table 2
Results of ELISA and HI tests of serum samples from backyard poultry and poultry kept on small poultry farms for antibodies against AI virus

Federal Okrug of the Russian Federation	RF Subject	Number of tested samples		Number of positives	
		2017	2018	2017	2018
Central	Vladimir Oblast	142	342	0	0
	Smolensk Oblast	n/t	6	n/t	1 ¹
Volga	Republic of Tatarstan	n/t	200	n/t	0
	Nizhny Novgorod Oblast	90	n/t	0	n/t
	Samara Oblast	n/t	384	n/t	0
	Republic of Chuvashia	n/t	22	n/t	0
North-West	Kaliningrad Oblast	805	110	5 ¹	0
Siberian	Altai Krai	45	500	0	22 ¹
Far East	Zabaikalsky Krai	1,066	388	0	0
	Primorsky Krai	100	3	0	2 ¹
	Khabarovsk Krai	620	n/t	0	n/t
North-Caucasian	Republic of Dagestan	291	500	19 ²	0
	Karachay-Cherkess Republic	120	n/t	0	n/t
	Republic of Ingushetia	225	500	2 ²	0
	Chechen Republic	1,139	500	138 ²	248 ²
South	Astrakhan Oblast	1,471	1,324	118 ²	124 ²
	Republic of Adygheya	176	n/t	2 ²	n/t
	Rostov Oblast	2,341	2,636	14 ¹ 25 ²	177 ²
	Volgograd Oblast	1,000	n/t	0	n/t
	Republic of Crimea	277	n/t	7 ¹	n/t
TOTAL		9,908	7,415	26¹ 304²	25¹ 550²

¹ post-infection antibodies;

² postvaccinal antibodies;
n/t – not tested.

Anti-A/H9 AIV antibodies were detected in 304 samples from AI-vaccinated chickens kept in the Astrakhan and Rostov Oblasts, Chechen Republic, Republics of Dagestan, Ingushetia and Adygheya. Anti-A/H5 AIV antibodies were de-

tected in samples collected from non-vaccinated backyard chickens in the Rostov and Kaliningrad Oblasts (in 14 and 5 samples, respectively). Seven samples submitted from the Republic of Crimea were ELISA tested positive for type AI.

In 2018, 7,415 serum samples collected from chickens, turkeys, ducks, geese, quails and guinea fowls kept in 14 RF Subjects were tested (Table 2). Specific antibodies were detected in 550 samples collected from AI-vaccinated poultry (chickens, quails, guinea fowl) in 3 RF Subjects (Astrakhan and Rostov Oblasts, Chechen Republic) (against subtype H5). Post-infection antibodies were detected by HI test in non-vaccinated chickens in the Altai and Primorsky Krai (against subtype H5 and H9, respectively) and by ELISA in one sample from a chicken in the Smolensk Oblast. Type A AIV-positive samples submitted from the Republic of Crimea and Smolensk Oblast were HI tested, the HI test did not confirm presence of anti-H5 and H9 AIV antibodies. When anti-H5 и H9 AIV antibodies were detected in non-vaccinated birds, the test results were forwarded to the relevant Rosselkhoz nadzor Territorial Administrations for taking appropriate measures. No A/H5 AIV-specific antibodies were detected in commercial and backyard ducks and geese during monitoring period.

The Figure shows geographical location of the RF regions where anti-AIV post-infection and postvaccinal antibodies were detected in poultry.

Anti-AIV antibodies detected in commercial and backyard chickens can be accounted for circulation of low virulent virus strains that cause respiratory and intestinal disorders of various severity and are not associated with

Fig. Regions of the Russian Federation where antibodies against avian influenza were detected in poultry by monitoring tests in 2017–2018

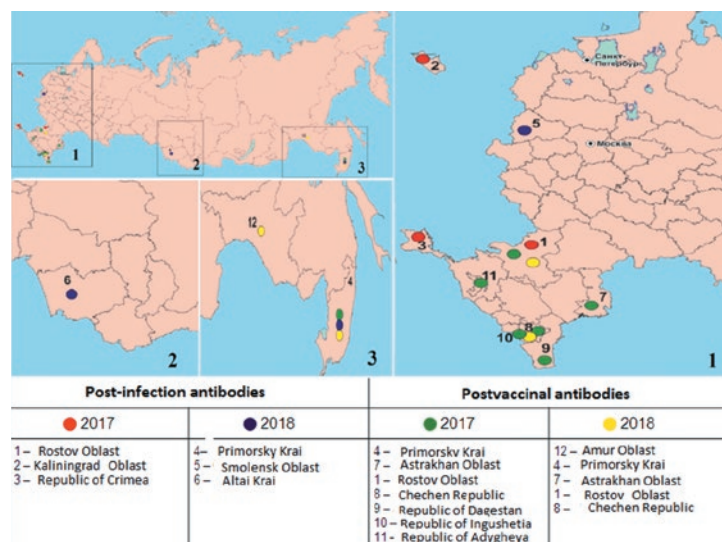


Table 3

Results of HI tests of serum samples from wild and synanthropic birds for antibodies against avian influenza virus

RF Subject	Bird species	Number of tested samples*	
		subtype H5	subtype H7
Nizhny Novgorod Oblast (2017)	Synanthropic birds (rock pigeon, rook, crow, jackdaw)	0/40	0/40
	Waterfowl (wild geese and ducks)	0/53	0/53
	Birds of field and forest (black grouse, woodcock)	0/6	0/6
Krasnoyarsk Krai (2017)	Synanthropic birds (rock pigeon)	0/130	0/130
	Waterfowl (mallard, wigeon, European teal)	0/20	0/20
	Wild birds of meadow, field, marsh (snipe, booted warbler, marsh snipe, stonechat, yellow wagtail, tree sparrow)	0/90	0/90
	Wild birds of forest (tree pipit, marsh tit, woodcock, wryneck, nuthatch, missel thrush, crested titmouse)	0/60	0/60
Republic of Tyva (2017)	Waterfowl and wetland birds (great-crested grebe, gadwall, red-crested pochard, cormorant, tern, herring gull, black-headed gull)	0/31	0/31
Samara Oblast (2018)	Wild birds (wild ducks, etc.)	0/55	0/55
	Synanthropic birds (pigeons, etc.)	0/96	0/96
TOTAL		0/581	0/581

*Number of positives/total number of samples.

mass mortality of poultry. However, circulation of such virus strains creates an enabling environment for their selection/mutation and emergence of highly virulent avian influenza virus strains.

It should be noted that postvaccinal immunity level in vaccinated backyard chickens was low. According to accompanying documents, inactivated A/H5 AIV antigen-containing vaccines were used for vaccination; however, postvaccinal antibodies were detected in less than 50% of vaccinated poultry.

Both waterfowl and land wild birds serve as a natural reservoir for avian influenza virus. Migratory wild birds in most cases can be an initial source of the infection that poses a risk of further infection introduction to poultry flocks and the disease spread to the disease-free regions.

314 and 266 serum samples from wild and synanthropic birds, respectively, from 4 RF regions were submitted for testing in 2017–2018. The obtained results were given in Table 3. Test group of synanthropic birds comprised bird species which habitats and ways of living were associated with humans and humans' dwellings. No antibodies against subtype H5 and H7 avian influenza virus were detected in 581 serum samples tested with HI.

CONCLUSION

Permanent HPAI emergence and wide spread pose a serious threat to poultry. Strict compliance with veterinary and sanitary standards and high biosecurity level can minimize avian influenza infection risk at indoor poultry establishments. In poultry industry, avian influenza is the most dangerous for backyards and small outdoor poultry farms where poultry can directly contact to wild and synanthropic birds being a source of the infection. Therefore, serological tests for avian influenza performed in the framework of official epidemiological monitoring should be continued and their number should be increased, as they are an essential component of the system for avian influenza control, prevention as well as AI occurrence prediction in the Russian Federation territory.

Conflict of interests. The authors claim no conflict of interests.

REFERENCES

1. An overview of H5 highly pathogenic avian influenza in Russia in 2016–2017 [Obzor situacii po vysokopatogennomu virusu grippa ptic subtipa H5 v Rossii v 2016–2017 gg.]. V. Yu. Marchenko, I. M. Susloparov, V. E. Ignatyev [et al.]. *Problemy Osobo Opasnykh Infekcii* [Problems of Particularly Dangerous Infections]. 2018; 1: 30–35; DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-30-35 (in Russian).
2. Alexander D. J. An overview of the epidemiology of avian influenza. *Vaccine*. 2007; 25 (30): 5637–5644; DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.10.051.
3. Avian influenza. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. OIE. 7th ed. Paris, 2012; 1 (2.3.4): 436–452.
4. Global and local persistence of influenza A (H5N1) virus. X. Li, Z. Zhang, A. Yu [et al.]. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20 (8): 1287–1295; DOI: 10.3201/eid2008.130910.
5. Highly pathogenic avian influenza virus (H5N8) in domestic poultry and its relationship with migratory birds in South Korea during 2014. J. Jeong, H. M. Kang, E. K. Lee [et al.]. *Vet. Microbiol.* 2014; 173 (3–4): 249–257; DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.08.002.
6. Highly pathogenic H7N7 avian influenza in Italy. L. Bonfanti, I. Monne, M. Tamba [et al.]. *Vet. Rec.* 2014; 174 (15): 382–385; DOI: 10.1136/vr.102202.
7. Influenza A (H5N8) virus similar to strain in Korea causing highly pathogenic avian influenza in Germany. T. Harder, S. Maurer-Stroh, A. Pohlmann [et al.]. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21 (5): 860–863; DOI: 10.3201/eid2105.141897.
8. Isolation and characterization of H5Nx highly pathogenic avian influenza viruses of clade 2.3.4.4 in Russia. V. Marchenko, N. Goncharova, I. Susloparov [et al.]. *Virology*. 2018; 525: 216–223; DOI: 10.1016/j.virol.2018.09.024.
9. Swayne D. E. Impact of vaccines and vaccination on global control of avian influenza. *Avian Dis.* 2012; 56 (Suppl 4): 818–828; DOI: 10.1637/10183-041012-Review.1.
10. Swayne D., Kapczynski D. Vaccines, vaccination, and immunology for avian influenza viruses in poultry. *Avian Influenza*. ed. D. E. Swayne. Ames, Iowa, 2008; 407–451; DOI: 10.1002/9780813818634.ch19.

Submitted on 21.03.19

Approved for publication on 14.05.19

УДК 619:579.843.94:57.082.26

DOI 10.29326/2304-196X-2019-2-29-12-16

ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ И ОПТИМИЗАЦИЯ РЕЖИМА ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM*

М. С. Фирсова¹, В. А. Евграфова², А. В. Потехин³¹ Аспирант, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: firsova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1531-004X² Ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: evgrafova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3053-6976³ Заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: potehin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-3529-4809

РЕЗЮМЕ

Проведена сравнительная оценка различных жидких питательных сред с добавлением ростовых факторов для культивирования штамма № 5111 *Avibacterium paragallinarum*. Самый высокий показатель удельной скорости роста ($\mu = 0,787 \pm 0,041 \text{ ч}^{-1}$) и наибольшее накопление биомассы возбудителя ($X = 9,52 \pm 0,04 \text{ lg КОЕ/см}^3$) наблюдали при культивировании на соево-казеиновом бульоне. При этом среднее время удвоения концентрации живых микробных клеток было минимальным ($td = 0,88 \text{ ч}$), а экспоненциальная фаза роста продолжалась в течение 6 ч. На соево-казеиновом бульоне в лабораторном биореакторе Biotron LiFlus GX определен оптимальный режим культивирования *Avibacterium paragallinarum*, основанный на измерении и регуляции основных физико-химических параметров. Время выхода культуры на начало стационарной фазы роста было максимальным при аэрации 1,0 л/мин, при этом парциальное давление кислорода в питательной среде составляло не более 25%. Периоду интенсивного снижения величины pH питательной среды соответствовала экспоненциальная фаза роста бактерий. Значение pH питательной среды в диапазоне от $7,30 \pm 0,02$ до $7,90 \pm 0,06$ существенно не влияло на показатель удельной скорости штамма, продолжительность лаг-фазы при этом была минимальна — 0,36–0,45 ч. При культивировании штамма в питательной среде с pH $7,90 \pm 0,06$ наблюдали максимальное накопление бактерий ($9,76 \pm 0,04 \text{ lg КОЕ/см}^3$). Добавление в процессе культивирования 0,6–0,8 г/л 40%-го раствора глюкозы способствовало снижению показателя pH суспензии. Минимальное значение окислительно-восстановительного потенциала (–75 мВ) соответствовало завершению экспоненциальной фазы роста штамма.

Ключевые слова: инфекционный ринит (ремофилез) кур, *Avibacterium paragallinarum*, штамм № 5111, культивирование.

UDC 619:579.843.94:57.082.26

NUTRIENT MEDIUM SELECTION AND OPTIMIZATION OF *AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM* DEEP CULTURE METHOD

M. S. Firsova¹, V. A. Yevgrafova², A. V. Potekhin³¹ Post-Graduate Student, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: firsova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1531-004X² Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: evgrafova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3053-6976³ Head of Sector, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: potehin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-3529-4809

SUMMARY

Different liquid nutrient media supplemented with growth factors intended for *Avibacterium paragallinarum* strain No. 5111 cultivation were compared. The highest specific growth rate ($\mu = 0.787 \pm 0.041 \text{ h}^{-1}$) and the maximal accumulation of the agent's biomass ($X = 9.52 \pm 0.04 \text{ lg CFU/cm}^3$) were reported when cultured in casein soybean broth. Herewith, the mean time of the live microbial cell concentration doubling was minimal ($td = 0.88 \text{ h}$), and the exponential growth phase lasted for 6 hours. The optimal method for *Avibacterium paragallinarum* cultivation in casein soybean broth in laboratory bioreactor Biotron LiFlus GX was determined through the measurements and adjustment of basic physical and chemical parameters. The time period until the culture reached the stationary growth phase was maximal with aeration at 1.0 l/min; herewith, the O₂ partial pressure in the nutrient medium did not exceed 25%. The period of the intense decrease of medium's pH was accompanied with the exponential phase of the bacterial growth. The nutrient medium's pH ranging from 7.30 ± 0.02 to 7.90 ± 0.06 had no significant impact on the specific growth rate of the strain and the lag phase duration was minimal — 0.36–0.45 h. The strain cultivation in the nutrient medium with pH 7.90 ± 0.06 demonstrated maximal aggregation of the bacteria ($9.76 \pm 0.04 \text{ lg CFU/cm}^3$). 40% glucose solution added at 0.6–0.8 g/l during cultivation facilitated the decrease of the suspension's pH. Minimal redox value (–75 mV) was indicative of the completion of the exponential phase of the strain growth.

Key words: avian infectious coryza (Glasser's disease), *Avibacterium paragallinarum*, strain No. 5111, cultivation.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время инфекционные болезни птиц, сопровождающиеся поражением респираторного тракта, остаются одной из наиболее актуальных и экономически значимых проблем ветеринарии. Из комплекса респираторных болезней птиц особый интерес для ветеринарных специалистов представляет инфекционный ринит (гемофилез) кур. Обусловлено это, с одной стороны, скудностью информации о заболевании, а с другой – отсутствием отечественных средств его специфической профилактики [2, 5, 6, 11].

Технология получения микробной биомассы в последние 30–40 лет претерпела коренные изменения. Выращивание микроорганизмов на плотных питательных средах часто заменяют глубинным культивированием в жидких белково-гидролизатных или синтетических средах [3, 4].

Суспензионное культивирование по сравнению с выращиванием бактерий на агаре имеет ряд преимуществ, одним из которых является возможность создания стандартных условий при использовании средств автоматизации, особенно при переходе от лабораторных и полупроизводственных условий к автоматизированным поточным линиям производства [3, 8].

Важное значение для качества получаемой микробной суспензии имеет выбор питательной (ростовой) среды. Возбудитель инфекционного ринита кур (*Avibacterium paragallinarum*) является очень прихотливым микроорганизмом, требует для роста сложных питательных сред, обогащенных сывороткой крови и никотинамидадениндинуклеотидфосфатом. Кроме того, бактерии *A. paragallinarum* обладают узким спектром адаптации к условиям культивирования, очень чувствительны к закислению питательных сред, а при многократных пересевах их вирулентность и иммуногенность снижаются [9, 10, 12].

Для создания вакцины против инфекционного ринита кур одной из важнейших задач является разработка технологии культивирования его возбудителя. Без изучения процессов жизнедеятельности бактерий для получения достаточного количества бактериальной массы со стабильными иммунобиологическими свойствами подобрать режимы культивирования за короткое время невозможно [1, 7, 9].

При выборе условий выращивания для каждого микроорганизма большое внимание уделяют подбору режимов культивирования, таких как температура, интенсивность перемешивания и аэрации, концентрация водородных ионов (рН), окислительно-восстановительный потенциал (еН), парциальное давление (рО₂) и концентрация глюкозы (Sr) [4, 9].

Наиболее подходящим методом получения бактериальной биомассы *A. paragallinarum*, достаточной для производства вакцины, является глубинное культивирование [3, 8]. Однако сведений относительно выращивания данным способом бактерий *A. paragallinarum* с целью получения антигенов в зарубежной и отечественной литературе недостаточно и многие аспекты до конца не выяснены, что существенно осложняет разработку отечественных средств специфической профилактики заболевания.

Поэтому целью данной работы были подбор питательной среды и оптимизация режима глубинного культивирования штамма *A. paragallinarum*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали штамм № 5111 бактерии *Avibacterium paragallinarum* серогруппы В, депонированный в коллекции штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2017 г.

Для культивирования *A. paragallinarum* использовали: бульон на основе триптического гидролизата мяса по Хоттингеру (ТГХ), бульон на основе панкреатического гидролизата казеина (ПГК) «Bacto Tryptone» (Difco), соево-казеиновый бульон (СКБ) на основе энзиматического гидролизата казеина и сои (Sigma), бульон на основе триптического гидролизата казеина (ТГК) «Tryptone-D» (HiMedia), бульон и агар для культивирования pleuropneumonia-подобных микроорганизмов «PPLO broth» и «PPLO agar» (Difco). В качестве V-фактора роста добавляли никотинамидадениндинуклеотид (1% приготовленного раствора) фирмы Roth. В качестве ростостимулирующих компонентов в питательные среды вносили сыворотку крови лошади (НПП «Микроген») и гемин (1% приготовленного раствора) фирмы Serva.

Культивирование бактерий проводили в жидкой питательной среде в конических колбах в орбитальном шейкере-инкубаторе при 150 об/мин в течение 12 ч при температуре 37 °С в условиях повышенного содержания углекислого газа.

Глубинное культивирование *A. paragallinarum* проводили в лабораторном биореакторе Biotron LiFlus GX с измерением рН, еН, рО₂ и Sr.

Концентрацию живых микробных клеток определяли методом титрования на плотных питательных средах. Высев культуры проводили после внесения расплодного материала и каждые 2 ч в процессе культивирования [4].

Удельную скорость роста штамма определяли по формуле:

$$\mu = 2,3 (\lg X / \lg X_0) / t,$$

где μ – удельная скорость роста микроорганизмов (ч⁻¹);

X_0 и X – начальная и конечная концентрация микробных клеток (КОЕ/см³);

t – время культивирования микроорганизмов (ч).

Время удвоения концентрации микробных клеток (td, ч) рассчитывали по формуле:

$$td = \ln 2 / \mu.$$

Рис. 1. Динамика роста бактерий *A. paragallinarum* штамма № 5111 на различных питательных средах

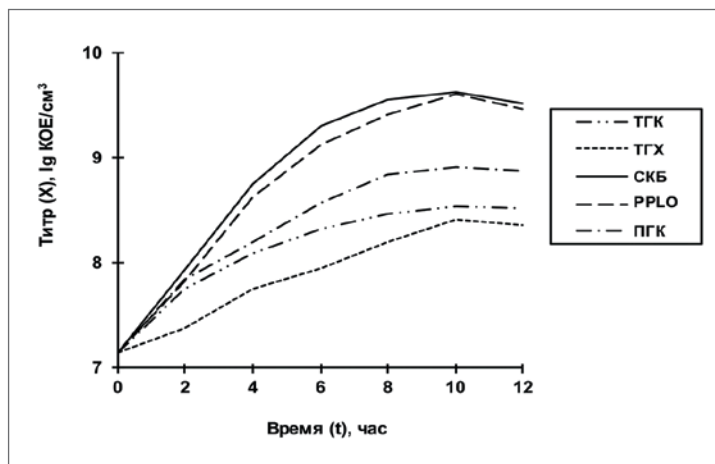


Таблица 1
Основные параметры роста бактерий *A. paragallinarum* при различной степени аэрации питательной среды
 $n = 3$

Параметры роста ($M \pm m$)	Принудительная подача воздуха (А), л/мин			
	0	1,0	2,0	4,0
Лag-фаза, ч	$0,45 \pm 0,09$	$0,48 \pm 0,05$	$1,34 \pm 0,05$	$1,54 \pm 0,07$
m , ч ⁻¹	$0,94 \pm 0,03$	$0,97 \pm 0,04$	$0,81 \pm 0,03$	$0,72 \pm 0,05$
$t_{\text{стац}}$, ч	$8,65 \pm 0,35$	$8,78 \pm 0,25$	$7,15 \pm 0,5$	$6,26 \pm 0,4$
X , lg КОЕ/см ³	$9,64 \pm 0,07$	$9,76 \pm 0,04$	$8,20 \pm 0,04$	$8,02 \pm 0,09$

m — удельная скорость роста в период экспоненциальной фазы;

$t_{\text{стац}}$ — время выхода культур на стационарную фазу;

X — максимальная концентрация живых микробных клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основным критерием при подборе оптимальных условий культивирования возбудителя инфекционного ринита кур является получение максимального количества биомассы.

Выбор питательной среды основывался на изучении динамики роста бактерий *A. paragallinarum* в различных средах. Результаты этих исследований представлены на рисунке 1.

Как видно из рисунка 1, наиболее высокие показатели удельной скорости роста в период экспоненциальной фазы были при использовании СКБ и среды на основе PPLO ($\mu = 0,787 \pm 0,041$ ч⁻¹ и $\mu = 0,824 \pm 0,034$ ч⁻¹ соответственно). Среднее время удвоения концентрации живых микробных клеток у таких культур составило менее часа ($td = 0,88$ ч и $td = 0,84$ ч соответственно). При культивировании бактерий *A. paragallinarum* на СКБ и PPLO отмечали наиболее продолжительную экспоненциальную фазу роста (6 ч) и наибольшее накопление возбудителя в данных питательных средах ($9,52 \pm 0,04$ lg КОЕ/см³ и $9,48 \pm 0,03$ lg КОЕ/см³ соответственно).

Минимальную удельную скорость роста ($m = 0,360 \pm 0,030$ ч⁻¹) и накопление микробных клеток ($X = 8,36 \pm 0,05$ lg КОЕ/см³) наблюдали на среде ТГХ. Среднее время удвоения концентрации живых микробных клеток в этом случае составило $td = 1,43$ ч.

Таким образом, полученные данные указывают на то, что наиболее перспективными питательными средами для наработки бактериальной массы *A. paragallinarum* являются среды на основе СКБ и PPLO-бульона. С учетом того, что СКБ по стоимости в 1,5–2,0 раза дешевле стоимости PPLO-бульона, его использование в дальнейших экспериментах экономически было более оправданно.

Оптимизацию режима глубинного культивирования штамма проводили в лабораторном биореакторе с измерением основных физико-химических параметров.

Для изучения влияния степени аэрации питательной среды на рост бактерий *A. paragallinarum* проводили периодическое глубинное культивирование при скорости вращения мешалки от 200 до 1000 об/мин в установленных режимах аэрации 1,0; 2,0 и 4,0 л/мин, а также без принудительной подачи воздуха.

Результаты исследований, представленные в таблице 1, показывают, что такие параметры, как удельная скорость роста и накопление возбудителя в питательной среде в зависимости от выбранного режима аэрации, имеют существенные различия. Начальная посевная концентрация бактерий составляла $7,14$ lg КОЕ/см³. Через 12 ч выращивания максимальное накопление живых микробных клеток составило $9,76 \pm 0,04$ lg КОЕ/см³, что значительно превышает таковые параметры, полученные при культивировании в колбе. Время, в течение которого культуры выходили на начало стационарной фазы роста (время наибольшего накопления возбудителя в питательной среде), было максимальным при культивировании бактерий без принудительной подачи воздуха и при аэрации не более 1,0 л/мин.

В ходе проведенных исследований было установлено, что результатом малого накопления бактериальной массы *A. paragallinarum* в условиях интенсивной подачи воздуха (4,0 л/мин) являлись продолжительная лag-фаза, низкая удельная скорость роста и короткое время выхода культуры на стационарную фазу. При этом значение парциального давления кислорода в питательной среде в процессе культивирования составляло от 50 до 75%. Более высокие показатели роста бактерий наблюдали в процессе культивирования без принудительной подачи воздуха или минимальной аэрации (1,0 л/мин). При этом в первом случае парциальное давление кислорода в питательной среде составляло 5%, во втором – не более 25%. В последующих экспериментах значение pO_2 поддерживали не выше критического уровня 25%.

Резкое снижение выживаемости бактерий при интенсивной аэрации, возможно, было связано с ингибирующим действием перекисных соединений, снижающих эффективность гликолитических процессов в клетках.

Оптимальным значением pH для многих видов бактерий, в том числе и *A. paragallinarum*, является 7,2–7,4. И хотя процессы катаболизма и анаболизма бактерий могут протекать в довольно широком диапазоне pH (от 6,0 до 8,0), активность их при различных значениях pH может быть различна, что может влиять на характер роста бактерий при наработке биомассы. Поэтому следующим этапом работы было изучение влияния pH среды на рост бактерий *A. paragallinarum*.

Исходная питательная среда на основе СКБ имела pH $7,45 \pm 0,05$. Значение показателя концентрации водородных ионов регистрировали каждый час на протяжении всего периода культивирования.

Полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что после внесения расплодного материала и выхода биореактора на установленный режим наблюдали снижение значения pH на $0,10 \pm 0,02$ ед. уже в течение первого часа культивирования, что было связано с короткой лag-фазой культуры.

На протяжении второго часа культивирования падение значения pH оставалось на прежнем уровне. С третьего часа культивирования интенсивность снижения pH постепенно нарастала, достигая максимальных значений к 7–8 ч (на $0,20 \pm 0,05$ ед./ч).

В результате проведенных исследований установлено, что периоду интенсивного снижения величины pH питательной среды соответствовала экспоненциальная фаза роста бактерий, которая продолжалась до 9 ч культивирования. К этому времени значение

pH снижалось до $6,50 \pm 0,05$, а концентрация живых микробных клеток достигала максимального значения $X = 9,72 \pm 0,04 \lg \text{КОЕ/см}^3$.

Полученные результаты исследований показали, что в процессе периодического глубинного культивирования *A. paragallinarum* происходит постоянное снижение показателя pH питательной среды, который при довольно низких значениях ($6,50 \pm 0,05$) может быть причиной раннего выхода культуры на стационарную фазу роста и, следовательно, препятствовать дальнейшему накоплению возбудителя. Чтобы это выяснить, провели исследования по изучению влияния различных значений pH питательной среды на рост и накопление бактерий *A. paragallinarum* в процессе периодического глубинного культивирования.

С этой целью были приготовлены питательные среды с pH 7,00; 7,30; 7,60; 7,90 и 8,20, которые использовали для глубинного культивирования штамма *A. paragallinarum*. При этом учитывали удельную скорость роста, время выхода культуры на стационарную фазу роста и накопление возбудителя в питательной среде. Результаты этих исследований представлены в таблице 2.

В ходе проведенных исследований было отмечено, что значение pH питательной среды в диапазоне от 7,30 $\pm$ 0,02 до 7,90 $\pm$ 0,06 существенно не влияло на показатель удельной скорости штамма, продолжительность лаг-фазы при этом была минимальна – 0,36–0,45 ч.

Анализ данных относительно накопления бактерий *A. paragallinarum* показал, что при культивировании штамма в питательных средах с радикальными значениями pH 7,00 $\pm$ 0,04 и 8,20 $\pm$ 0,05 рост возбудителя характеризовался наименьшим значением X ($9,50 \pm 0,03 \lg \text{КОЕ/см}^3$ и $9,72 \pm 0,04 \lg \text{КОЕ/см}^3$ соответственно) по сравнению с диапазоном значений pH 7,60 $\pm$ 0,04 – 7,90 $\pm$ 0,06 ($9,74 \pm 0,03$ – $9,76 \pm 0,04 \lg \text{КОЕ/см}^3$ соответственно).

Большее накопление биомассы способствовало времени выхода культуры на стационарную фазу роста, которое было выше при культивировании в питательной среде с pH 7,90 $\pm$ 0,06 ($t_{\text{стац}} = 9,45 \pm 0,5$ ч) и 7,60 $\pm$ 0,04 ($t_{\text{стац}} = 9,45 \pm 0,3$ ч).

На основании полученных экспериментальных данных провели дополнительное культивирование штамма № 5111 *A. paragallinarum*, установив «плавающий» диапазон автоматического регулирования pH от 7,6 до 7,9. По окончании процесса закисления бактериальной суспензии и повышения значения pH на 0,2 ед. осуществлялась импульсная подача 40%-го раствора глюкозы с помощью перистальтического насоса.

По мере роста микроорганизмов срабатывание регулятора pH происходило с увеличивающейся частотой до того момента, когда прекращалось закисление среды. При добавлении раствора глюкозы снова начиналось закисление, что свидетельствует о лимитировании роста культуры данным субстратом (0,6–0,8 г/л). Необходимо отметить, что даже при лимитировании роста *A. paragallinarum* глюкозой в процессе культивирования наблюдалась плавная тенденция к снижению показателя pH. По всей видимости, образующиеся при ферментации глюкозы органические кислоты не подвергаются дальнейшему расщеплению и, как следствие, накапливаются в питательной среде.

Известно, что в процессе аэробного культивирования микроорганизмов показатель окислительно-вос-

Таблица 2

Влияние pH среды на основные параметры роста бактерий *A. paragallinarum*
 $n = 3$

Значение pH	Параметры роста при глубинном культивировании ($M \pm m$)		
	$m, \text{ч}^{-1}$	$t_{\text{стац}}, \text{ч}$	$X, \lg \text{КОЕ/см}^3$
7,00 $\pm$ 0,04	0,80 $\pm$ 0,05	8,00 $\pm$ 0,5	9,50 $\pm$ 0,03
7,30 $\pm$ 0,02	0,91 $\pm$ 0,03	9,40 $\pm$ 0,4	9,67 $\pm$ 0,02
7,60 $\pm$ 0,04	0,96 $\pm$ 0,04	9,45 $\pm$ 0,3	9,74 $\pm$ 0,03
7,90 $\pm$ 0,06	0,97 $\pm$ 0,03	9,45 $\pm$ 0,5	9,76 $\pm$ 0,04
8,20 $\pm$ 0,05	0,95 $\pm$ 0,03	9,30 $\pm$ 0,4	9,72 $\pm$ 0,04

m – удельная скорость роста в период экспоненциальной фазы;

$t_{\text{стац}}$ – время выхода культуры на стационарную фазу роста;

X – максимальная концентрация живых микробных клеток.

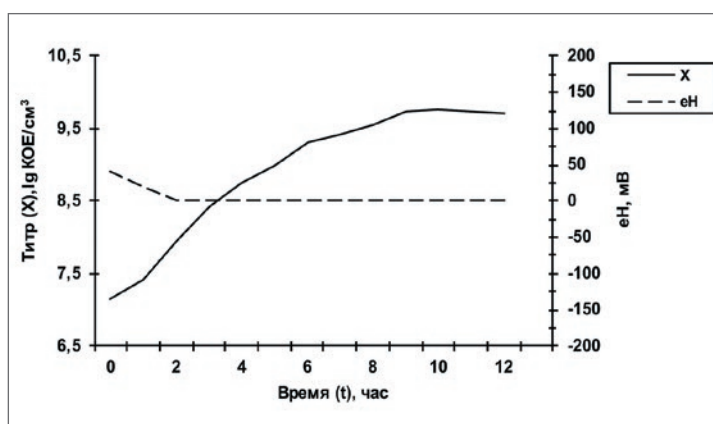
становительного потенциала нестабилен, так как eH является сложной функцией, которая зависит от таких показателей, как pH, pO_2 , температура, а также свойств среды и особенностей роста микроорганизма.

Оптимальное значение eH для большинства аэробных и факультативно-анаэробных бактерий находится в диапазоне от –200 до +200 мВ. И хотя процессы метаболизма бактерий могут протекать в более широком диапазоне eH (от –350 до +350 мВ), активность их при различных значениях eH может быть различна, что может отражаться на величине конечной концентрации микроорганизмов. Поэтому следующим этапом работы было определение динамики изменения eH в процессе глубинного культивирования *A. paragallinarum* (рис. 2).

Исходное значение eH питательной среды до внесения посевного материала составляло +40 мВ. В процессе культивирования наблюдали постепенное снижение eH до –105 мВ, стабилизацию параметра и незначительное повышение до –75 мВ. Минимальное значение eH соответствовало завершению экспоненциальной фазы роста микроорганизмов.

Таким образом, процесс периодического глубинного культивирования *A. paragallinarum* штамма № 5111 при регулировании основных физико-химических

Рис 2. Кривая роста *A. paragallinarum* и динамика изменения eH питательной среды в процессе периодического глубинного культивирования



параметров характеризовался следующими показателями: продолжительность фазы приспособления (лаг-фазы) – $0,46 \pm 0,05$ ч (1/26 часть от общего времени культивирования); длительность фазы логарифмического роста (экспонента) – $9,08 \pm 0,10$ ч; максимальная удельная скорость роста $0,97 \pm 0,03$ ч⁻¹; время удвоения биомассы – $0,72 \pm 0,02$ ч; максимальное накопление живых микробных клеток – $9,76 \pm 0,04$ lg КОЕ/см³.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований была подобрана оптимальная питательная среда для культивирования *A. paragallinarum*. Максимальные показатели удельной скорости роста, время удвоения и накопление микробных клеток наблюдали на СКБ. Учитывая изменения физико-химических показателей питательной среды в процессе периодического глубинного культивирования *A. paragallinarum*, можно получать бактериальную массу, которая бы содержала популяции бактерий, взятые в конце экспоненциальной – начале стационарной фазы роста (8–9 ч), что дает возможность приготовить антиген с выраженными антигенными и иммуногенными свойствами.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баснакьян И. А. Культивирование микроорганизмов с заданными свойствами. – М.: Медицина, 1992. – 188 с.
- Данилова В. А., Потехин А. В., Степанова И. А. Особенности выделения и идентификации возбудителя инфекционного ринита (гемофилеза) кур // Ветеринария сегодня. – 2016. – № 3 (18). – С. 65–70.
- Динамика накопления бакмассы сальмонелл при их глубинном культивировании / А. П. Медведев, А. А. Вербицкий, Ю. О. Астащенко, К. А. Огурцова // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2018. – № 1 (8). – С. 9–11.
- Перт С. Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток: пер. с англ. – М.: Мир, 1978. – 330 с.
- An update on avian infectious coryza: Its reemerging trends on epidemiology, etiologic characterization, diagnostics, therapeutic and prophylactic advancements / S. M. Deshmukh, H. S. Banga, S. Sodhi, R. S. Brar // J. Dairy Vet. Anim. Res. – 2015. – Vol. 2 (3). – P. 86–92; DOI: 10.15406/jdvar.2015.02.00037.
- Blackall P. J., Soriano V. E. Infectious coryza and related bacterial infections // Diseases of Poultry / ed. Y. M. Saif [et al.]. – 12th ed. – Ames, Iowa, 2008. – P. 789–803.
- Development of a recombinant vaccine against infectious coryza in chickens / R. Sakamoto, S. Baba, T. Ushijima [et al.] // Res. Vet. Sci. – 2013. – Vol. 94 (3). – P. 504–509; DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.10.027.
- Fairbrother R. W. The cultivation of bacteria // A Text-Book of Medical Bacteriology. – 2014. – Chap. IV. – P. 33–48; DOI: 10.1016/b978-1-4832-0032-3.50008-4.
- Maizirwan M., Mohamad R. S., Ramlan A. A. The Growth rate of *Haemophilus paragallinarum* profile in shake flask fermentation; determination [Substrate]_{critical} // J. Teknologi. – 2002. – Vol. 36 (F). – P. 55–60; DOI: 10.11113/jt.v.36.583.
- Patil V. V., Mishra D., Mane D. V. 16S ribosomal RNA sequencing and molecular serotyping of *Avibacterium paragallinarum* isolated from Indian field conditions // Veterinary World. – 2017. – Vol. 10 (8). – P. 1004–1007; DOI: 10.14202/vetworld.2017.1004-1007.
- 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 1). – P. 353–362; DOI: 10.1099/ijs.0.63357-0.
- Selection of *Avibacterium paragallinarum* Page serovar B strains for an infectious coryza vaccine // H. Sun, S. Xia, X. Li [et al.] // Vet. Immunol. Immunopathol. – 2018. – Vol. 199. – P. 77–80; DOI: 10.1016/j.vetimm.2018.04.001.
- Баснакьян И. А. Cultivation of microorganisms with tailor-made properties [Кул'tivirovanie mikroorganizmov s zadannymi svoystvami]. M.: Medicina, 1992 (in Russian).
- Danilova V. A., Potekhin A. V., Stepanova I. A. Peculiarities of isolation and identification of avian infections coryza (Glasser's disease) [Osobennosti vydeleniya i identifikatsii возбуdivatelya infekcionnogo rinita (gemofileza) kur]. Veterinary Science Today. 2016; 3 (18):65–70 (in Russian).
- Salmonella yield aggregation dynamics at their deep culture [Dinamika nakopleniya bakmassy sal'monell pri ih glubinnom kul'tivirovanii]. A. P. Medvedev, A. A. Verbitsky, Yu. O. Astashyonok, K. A. Ogurtsova. Veterinarny zhurnal Belarusi. 2018; 1 (8): 9–11 (in Russian).
- Pert S.J. Principles of Microbe and Cell Cultivation: translated from English [Osnovy kul'tivirovaniya mikroorganizmov i kletok]. M.: Mir, 1978 (in Russian).
- An update on avian infectious coryza: Its reemerging trends on epidemiology, etiologic characterization, diagnostics, therapeutic and prophylactic advancements. S. M. Deshmukh, H. S. Banga, S. Sodhi, R. S. Brar. J. Dairy Vet. Anim. Res. 2015; 2 (3): 86–92; DOI: 10.15406/jdvar.2015.02.00037.
- Blackall P. J., Soriano V. E. Infectious coryza and related bacterial infections. Diseases of Poultry. ed. Y. M. Saif [et al.]. 12th ed. Ames, Iowa, 2008; 789–803.
- Development of a recombinant vaccine against infectious coryza in chickens. R. Sakamoto, S. Baba, T. Ushijima [et al.]. Res. Vet. Sci. 2013; 94 (3): 504–509; DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.10.027.
- Fairbrother R. W. The cultivation of bacteria. A Text-Book of Medical Bacteriology. 2014; Chap. IV: 33–48; DOI: 10.1016/b978-1-4832-0032-3.50008-4.
- Maizirwan M., Mohamad R. S., Ramlan A. A. The Growth rate of *Haemophilus paragallinarum* profile in shake flask fermentation; determination [Substrate]_{critical}. J. Teknologi. 2002; 36 (F): 55–60; DOI: 10.11113/jt.v.36.583.
- Patil V. V., Mishra D., Mane D. V. 16S ribosomal RNA sequencing and molecular serotyping of *Avibacterium paragallinarum* isolated from Indian field conditions. Veterinary World. 2017; 10 (8): 1004–1007; DOI: 10.14202/vetworld.2017.1004-1007.
- 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 1): 353–362; DOI: 10.1099/ijs.0.63357-0.
- Selection of *Avibacterium paragallinarum* Page serovar B strains for an infectious coryza vaccine. H. Sun, S. Xia, X. Li [et al.]. Vet. Immunol. Immunopathol. 2018; 199: 77–80; DOI: 10.1016/j.vetimm.2018.04.001.

Поступила 15.04.19

Принята в печать 24.05.19

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР ПО ЯЩУРУ в популяции диких животных на примере Забайкальского края

В. В. Никифоров¹, Т. В. Вадопалас², Д. А. Лозовой³, Е. В. Кирильцов⁴, В. П. Семакина⁵

¹ Заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: nikiforov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3390-3209

² Ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: vadopalas@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-6681-9364

³ Директор, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: lozovoy@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5983-7062

⁴ Ведущий научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, НИИВ Восточной Сибири – филиал СФНЦА РАН, г. Чита, Россия, e-mail: kiriltsov.e.v@mail.ru

⁵ Заведующий сектором, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: semakina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-4078-4458

РЕЗЮМЕ

Дикие животные могут являться потенциальным источником инфекционных заболеваний для домашнего скота. Особенно актуальна данная проблема в зонах отгонного животноводства, где зачастую имеет место контакт диких и домашних животных на пастбищах и местах водопоя. Следовательно, источником инфекции в дикой природе могут выступать в том числе и дзерены, мигрирующие с приграничных территорий Монголии и Китая в Российскую Федерацию. В связи с чем выяснение роли диких антилоп дзеренов в распространении ящура является актуальной задачей. Проведены сбор информации и анализ эпизоотологических данных о миграции дзеренов из Монголии на территорию Забайкальского края Российской Федерации за период с 1992 по 2018 г. Представлена эпизоотическая ситуация по ящуру в Забайкальском крае Российской Федерации, Монголии и Китае в период с 2005 по 2018 г. Проведена корреляция серотипов вируса ящура, вызывавших вспышки заболевания в Забайкальском крае Российской Федерации с 2006 по 2018 г., и серотипов, зарегистрированных в Монголии. Отобранные пробы биоматериала от 20 дзеренов были исследованы в Лабораторно-диагностическом центре ФГБУ «ВНИИЗЖ». Полученные результаты лабораторных исследований подтвердили циркуляцию вируса ящура в популяции дзеренов, мигрирующих в приграничные районы Российской Федерации из сопредельных территорий Монголии. Описана потенциальная угроза заноса вируса ящура на территорию Забайкальского края Российской Федерации дикими животными. Также обоснована необходимость организации системы надзора за ящуром в популяции восприимчивых диких мигрирующих животных.

Ключевые слова: ящур, надзор, дикие мигрирующие животные, дзерены.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с возрастающим в последние годы уровнем угрозы заноса на территорию Российской Федерации возбудителей ряда трансграничных инфекционных болезней животных, в частности ящура, с сопредельных территорий Монголии и Китая, возникла необходимость в изучении эпизоотической ситуации по ящуру среди восприимчивых к этой болезни диких животных, которые могут служить природным резервуаром ящура и, следовательно, источником инфекции, представляющим угрозу для отечественного животноводства.

Ящур – особо опасное, карантинное, высококонтагиозное вирусное заболевание домашних и диких парнокопытных и мозолоногих животных. Болезнь характеризуется острым течением, генерализацией инфекционного процесса [9]. К ящуру восприимчивы 105 видов домашних и диких парнокопытных животных, принадлежащих к 33 семействам и 14 отрядам [13].

В зарубежной научной литературе и средствах массовой информации имеется много сообщений о регистрации ящура у разных видов диких парнокопытных животных и их значительной роли в распространении ящура и других особо опасных болезней среди сельскохозяйственных животных [10]. Ряд научных работ был посвящен изучению восприимчивости диких животных к ящуру [1–4, 8]. В ходе исследований были описаны случаи ящура в дикой природе (в т. ч. и в зоопарках), которые потенциально доказывают, что многие дикие животные могут быть восприимчивы к вирусу, а также являться источником распространения инфекции [12].

Дикие животные могут представлять серьезную угрозу животноводству, так как являются закрытой экологической нишей, в которой циркулируют многие возбудители инфекционных и паразитарных заболеваний,

поэтому весьма актуальной является задача выяснения роли диких антилоп дзеренов в распространении ящура [11, 12].

Дзерен (*Procapra gutturosa*) – копытное животное рода дзеренов семейства полорогих. Обитает в степях и полупустынях Монголии, в провинциях Внутренняя Монголия и Ганьсу Китая. На территории России очень редок, занесен в Красную книгу, встречается в Даурии, в Чуйской степи (Горный Алтай) и на территории заповедника «Убсунурская котловина» (Республика Тыва) при заходе из Монголии. До конца 1930-х гг. дзерен был многочисленным в Тыве, но позже его популяция резко сократилась. В настоящее время дзерен в России постоянно встречается лишь в Даурском заповеднике и его окрестностях на юге Забайкальского края [5].

Среди дзеренов ящур протекает в латентной форме без выраженных клинических признаков, в связи с чем они могут служить источником инфекции в течение длительного времени. Это в сочетании с отгонным скотоводством, практикуемым на приграничных территориях ряда субъектов Российской Федерации, имеющих общую границу с Монголией и Китаем, усугубляет опасность заражения сельскохозяйственных животных от инфицированных диких животных.

АНАЛИЗ ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИХ ДАННЫХ

Как следует из собранных эпизоотологических данных, в 70-е гг. прошлого столетия популяция дзеренов в Читинской области была полностью истреблена, в связи с чем этот вид животных занесен в Красную книгу Российской Федерации.

В 1992 г. небольшая группа антилоп была обнаружена на территории заповедника «Даурский» в Ононском районе Читинской области (позже переименованной в Забайкальский край), медленно увеличившаяся

к 2000 г. до 80 голов. Одновременно на соседних территориях Монголии выявлена основная популяция дзеренов.

В январе 2001 г. произошла первая современная массовая миграция дзеренов из Монголии на территорию Кыринского района Забайкальского края, обусловленная очень низкими температурами (до минус 47 °С) и высоким снежным покровом. Стада до 500 особей находились до начала апреля 2001 г. вблизи государственной границы с Монголией.

В феврале 2003 г. стада антилоп до 200 особей вновь появились в Кыринском районе на степных участках около государственной границы.

В суровую зиму 2009–2010 гг. произошла самая крупная миграция дзеренов из Монголии в Забайкалье. Только в юго-восточную часть Кыринского района в середине декабря 2009 г. зашло около 15 тысяч животных, а в январе – феврале 2010 г. – еще около 5 тысяч особей.

В декабре 2015 г. сотрудники Онон-Бальджинского национального парка Монголии сообщили, что на его территории отмечено скопление дзеренов общей численностью около 50 тысяч особей и около тысячи голов мигрировало на территорию РФ.

В середине января 2016 г. стада дзеренов по 1000–2000 голов, общей численностью около 50 тысяч особей, перекочевали в Акиншинский и Ононский районы Забайкальского края.

Во второй половине октября 2018 г. стада дзеренов зашли на территорию Ононского и Борзинского районов (рис. 1).

Мигрировавшие из Монголии дзерены смешиваются с постоянно обитающими в Даурском заповеднике стадами этих животных (около 12 тысяч голов). Однако основная популяция животных в период с марта по май перемещается обратно на территорию Монголии.

Рис. 1. Миграция дзеренов из Монголии на территорию Забайкальского края РФ





Рис. 2. Совместный выпас крупного рогатого скота со стадами мигрировавших из Монголии дзеренов

Согласно данным, представленным сотрудниками НИИВ Восточной Сибири – филиала СФНЦ РАН (г. Чита), неоднократно наблюдался совместный выпас крупного рогатого скота со стадами мигрировавших из Монголии дзеренов (рис. 2).

Таким образом, миграция дзеренов из Монголии в Россию в период с 2001 по 2018 г. затрагивала территорию Кыринского, Акшинского, Ононского и Борзинского районов Забайкальского края (рис. 3).

В таблице 1 представлена эпизоотическая ситуация по ящуру в Забайкальском крае Российской Федерации, Монголии и Китае в период с 2005 по 2018 г., согласно официальным данным, представленным на сайте Всемирной организации здравоохранения животных

(www.oie.int). В таблице отражены серотипы вируса ящура, зарегистрированные в трех странах в сходные временные рамки, с учетом локализации вспышек ящура и с выделением приграничных с Россией аймаков Монголии, являющихся основным местом обитания дзеренов.

Анализ приведенных в таблице 1 данных свидетельствует, что серотипы вируса ящура, вызвавшие вспышки заболевания в Забайкальском крае РФ в 2006–2018 гг., соответствуют серотипам, зарегистрированным в Монголии, за исключением 2016 г., когда заболевание возникло не в приграничном с Россией монгольском аймаке, а в центре страны. Вместе с тем в 2007, 2008, 2009, 2012 гг. не зарегистрировано вспышек ящура ни в Монголии, ни в Забайкальском крае РФ.

Рис. 3. Миграция дзеренов из Монголии в Россию в 2001–2018 гг. на территории Кыринского, Акшинского, Ононского и Борзинского районов Забайкальского края

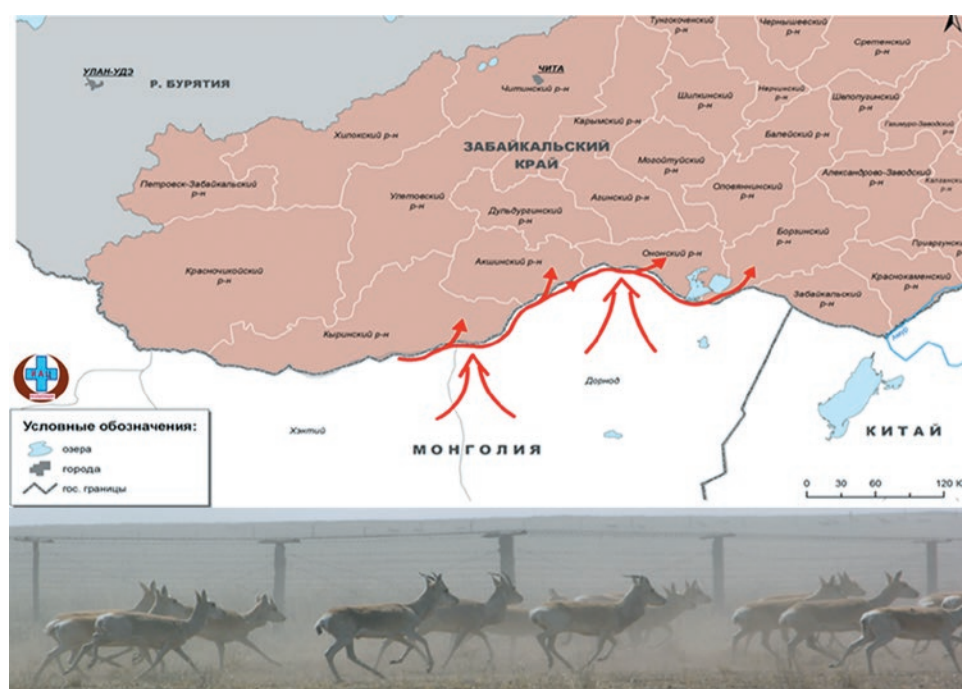


Таблица 1

Регистрация серотипов вируса ящура в России (Забайкальский край), Монголии и Китае в 2005–2018 гг.

Год	Россия (Забайкальский край), серотип вируса	Монголия		Китай	
		Аймак	Серотип вируса	Провинция	Серотип вируса
2005	–	Dornod*	Азия-1	Beijing, Gansu, Hebei, Jiangsu, Qinghai, Shandong, Xinjiang	Азия-1
2006	Азия-1	–	–	Chongking, Gansu, Hubei, Jiangsu, Ningxia, Qinghai, Tibet	Азия-1
2007– 2009	–	–	–	Guangxi, Guizhou, Hubei, Hunan, Jiangsu, Inner Mongolia, Shaanxi, Shandong, Shanghai, Sichuan, Xinjiang	Азия-1, А
2010	0	Dornod*, Govi-Sumber, Khentii*, Sukhbaatar, Tuv	0	Beijing, Gansu, Guangdong, Guizhou, Jiangxi, Ningxia, Qinghai, Shaanxi, Xinjiang, Tibet	А, 0
2011	0	–	–	Guizhou, Hubei, Ningxia, Xinjiang, Tibet	0
2012	–	–	–	Jiangsu, Liaoning, Ningxia, Tibet	0
2013	А	Bayan-Ulgii, Dornod*	А	Guangdong, Jiangsu, Qinghai, Sichuan, Xinjiang, Tibet, Yunnan	А
2014	А, 0	Dornogovi, Khentii*, Sukhbaatar	0	Jiangsu, Jiangxi, Tibet	А, 0
2015	–	Bayan-Ulgii, Khovd, Sukhbaatar	0	Anhui, Hubei	А
2016	0	Govi-Sumber	А	Guizhou, Jiangxi, Sichuan, Xinjiang	0
2017	–	Dornod*, Dornogovi, Dundgovi, Khentii*, Sukhbaatar	0	Guangdong, Guizhou, Xinjiang, Tibet	А, 0
2018	0	Arkhangai, Dornod*, Dornogovi, Dundgovi, Govi-Sumber, Khentii*, Sukhbaatar, Umnugovi	0	Anhui, Gansu, Guangdong, Guangxi, Guizhou, Henan, Hubei, Inner Mongolia, Ningxia, Shanxi, Xinjiang, Yunnan	А, 0

* приграничные с Россией аймаки Монголии.

Рис. 4. Места отбора проб биоматериала от 20 дзверенов

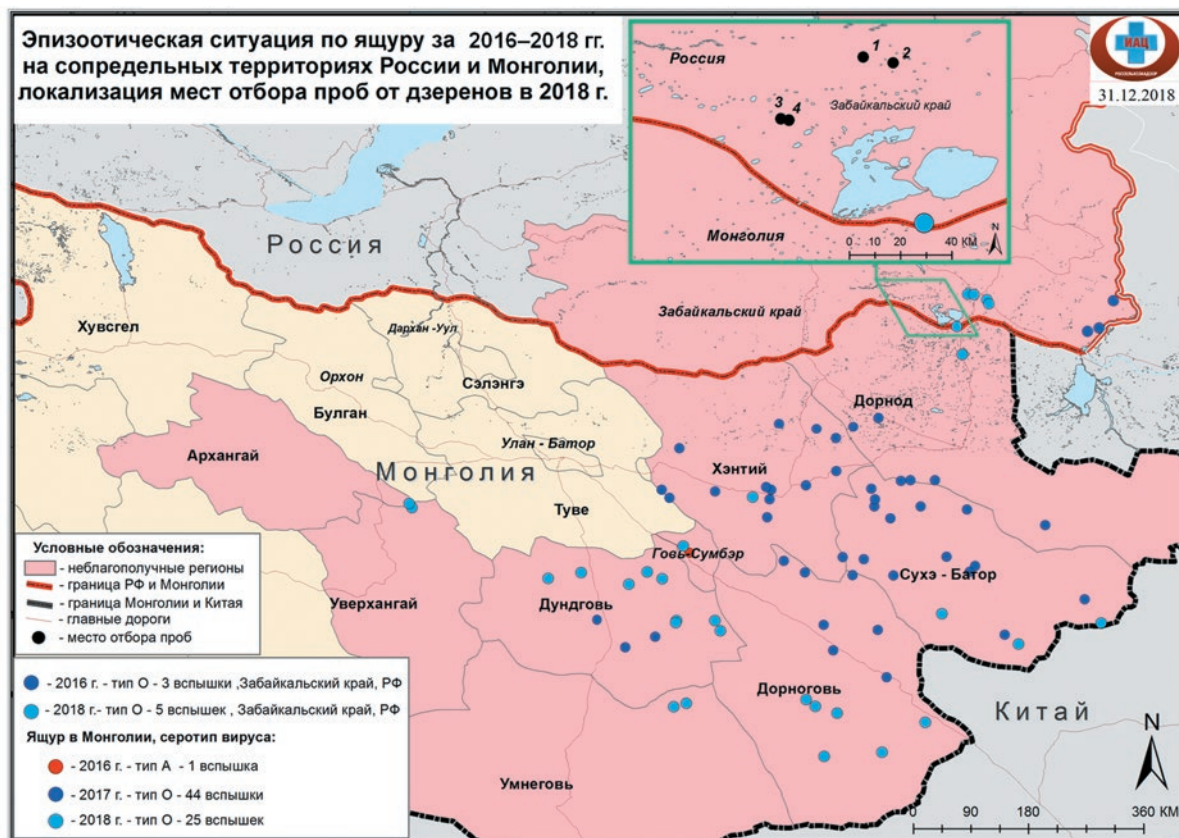


Таблица 2

Перечень проб биоматериала, полученных от дзеренов, мигрировавших из Монголии на территорию Ононского района Забайкальского края

Номер живот-ного	Места отстрела и пробоотбора, наименование пробы	Возраст и пол животного	Дата отбора проб
1. Засулан, около с. Новая Заря			
1	сыворотка крови, подчелюстные лимфатические узлы, слизистая оболочка глотки	самец 4–5 лет	23.10.2018
2	сыворотка крови, подчелюстные лимфатические узлы, слизистая оболочка глотки, миндалины	самец 4–5 лет	
2. Засулан, около с. Новая Заря			
3	сыворотка крови, подчелюстной лимфатический узел, слизистая оболочка глотки, миндалины, аортальный лимфатический узел, поджелудочная железа	самец 6–7 лет	23.10.2018
4	сыворотка крови, подчелюстные лимфатические узлы, слизистая оболочка глотки, миндалины	матка 3–4 лет	23.10.2018
5	сыворотка крови, подчелюстные и заглоточные лимфатические узлы, слизистая оболочка глотки	самец 2 года	23.10.2018
3. Село Красная Ималка			
6	сыворотка крови, подчелюстной и заглоточный лимфатические узлы, слизистая оболочка глотки	самец 6–7 лет	24.10.2018
7	сыворотка крови, подчелюстной, заглоточный и брыжеечный лимфатические узлы, слизистая оболочка глотки	самка 3–4 лет	24.10.2018
8	сыворотка крови, подчелюстные и брыжеечный лимфатические узлы	самец 6–7 лет	24.10.2018
9	сыворотка крови, брыжеечный и подчелюстной лимфатические узлы	самец 5–6 лет	24.10.2018
10	сыворотка крови, брыжеечный и подчелюстной лимфатические узлы	самец 5–6 лет	24.10.2018
11	сыворотка крови, брыжеечный и подчелюстной лимфатические узлы	самец 5–6 лет	24.10.2018
12	сыворотка крови, подчелюстной лимфатические узлы, слизистая оболочка глотки	самец 6–7 лет	24.10.2018
4. Падь Тэмэты, около с. Красная Ималка			
13	сыворотка крови, подчелюстной лимфатический узел, слизистая оболочка глотки	самец 5–6 лет	25.10.2018
14	сыворотка крови, подчелюстной лимфатический узел, слизистая оболочка глотки	самка 4–5 лет	25.10.2018
15	сыворотка крови, брыжеечный лимфатический узел, слизистая оболочка глотки	самец 5–6 лет	25.10.2018
16	сыворотка крови, подчелюстной лимфатический узел, слизистая оболочка глотки	самец 6–7 лет	25.10.2018
17	сыворотка крови, подчелюстной лимфатический узел, слизистая оболочка глотки	самец 5–6 лет	25.10.2018
18	сыворотка крови, подчелюстной лимфатический узел, слизистая оболочка глотки	самец 4–5 лет	25.10.2018
19	сыворотка крови, подчелюстной лимфатический узел, слизистая оболочка глотки	самка 3–4 лет	25.10.2018
20	сыворотка крови, подчелюстной лимфатический узел, слизистая оболочка глотки	самец 6–7 лет	25.10.2018
Итого: 20 проб сыворотки крови и 76 проб биоматериала			

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В октябре 2018 г. был проведен отбор проб от дзеренов, мигрировавших с территории Монголии на территорию государственного биосферного заповедника «Даурский» Ононского района Забайкальского края.

Поскольку монгольский дзерен занесен в Красную книгу, Управлением Россельхознадзора по Забайкальскому краю было получено разрешение Росприроднадзора на комиссионный отстрел 20 особей

в присутствии представителей Росприроднадзора и сотрудников заповедника.

Отстрел животных проводился в 4 точках приграничной зоны с Монголией на расстоянии 20–80 км от инженерных сооружений за территорией заповедника через 1–2 недели (по информации сотрудников заповедника) после их миграции из Монголии на территорию Забайкальского края (рис. 4). Отбор проб



Рис. 5. Разрез в области пяточного угла копыта дзерена. Отсутствие признаков пододерматита

производился согласно «Методическим указаниям по отбору, консервированию и транспортировке проб патологического материала и продуктов убоя для лабораторной диагностики ящура» [7]. Пробы биоматериала непосредственно после отбора замораживались и транспортировались в ФГБУ «ВНИИЗЖ» в жидком азоте в сосуде Дьюара.

В результате проведенных мероприятий было получено 20 проб сыворотки крови и 76 проб биоматериала от 20 дзеренов в возрасте от 2 до 7 лет (табл. 2).

Исследования сывороток крови проводили в Лабораторно-диагностическом центре ФГБУ «ВНИИЗЖ» методом иммуноферментного анализа (ИФА) с целью выявления антител к структурным и неструктурным белкам вируса ящура (NSP). Биологический материал (слизистые оболочки глотки, лимфатические узлы, миндалины) исследовали на наличие РНК вируса ящура и проводили вирусовыделение (С. Н. Фомина, А. В. Щербаков).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

При наблюдении за животными больных или ослабленных, отстающих от стада особей не выявлено. При исследовании туш убитых животных патологоанатомических изменений, характерных для ящура (поражений конечностей с эрозиями и признаками пододерматита), обнаружено не было (рис. 5).

В процессе исследования полученных от животных (16 самцов и 4 самок) проб сыворотки крови от 10 животных (№ 1, 2, 6, 10, 13, 14, 15, 17, 19 и 20) дали положительный результат на наличие антител к неструктурным полипротеинам вируса ящура (табл. 3). Положительными оказались пробы, полученные в 3 точках пробоотбора – 1, 3 и 4. Кроме того, в пробах от двух самок из Падь Тэмэты выявлены специфические антитела к вирусу ящура типа О (№ 14 и № 19). Данные результаты дают основания подозревать, что дзерены переболели ящуром данного типа, однако РНК вируса в пробах биоматериала обнаружить не удалось. В других положительно реагирующих пробах, полученных от 8 самцов дзеренов (№ 1, 2, 6, 10, 13, 15, 17 и 20), специфических антител к вирусу ящура типов О, А и Азия-1 обнаружено не было.

Следует отметить, что в 2018 г. вспышки ящура, обусловленные вирусом типа О, зарегистрированы

в приграничных районах Dornod и Khentii (Монголия). В этот же временной период 5 вспышек ящура отмечены в Борзинском районе Забайкальского края. Изоляты вируса ящура, выделенные от больных животных в Забайкальском крае в 2018 г., по результатам проведенного в ФГБУ «ВНИИЗЖ» филогенетического анализа отнесены к генетической линии O/PanAsia, получившей широкое распространение в Монголии в 2017–2018 гг. [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам работы, проведенной совместно с представителями НИИВ Восточной Сибири (филиала СФНЦ РАН) и Россельхознадзора Забайкальского края, установлено, что начиная с 2001 г. из аймака Dornod (Монголия) в Забайкальский край ежегодно мигрируют дзерены. При исследовании проб от указанных животных были обнаружены антитела к вирусу ящура, что свидетельствует об их инфицировании и, следовательно, возможности циркуляции вируса ящура в обследованных стадах. Это может оказаться причиной заноса и возникновения ящура у домашних животных на территории Забайкальского края.

Результаты проведенных исследований, с учетом анализа эпизоотологических данных за период с 1992 по 2018 г., можно принять как доказательную базу необходимости внедрения системы надзора по ящуре в дикой фауне на территории Российской Федерации, граничащей с неблагополучными по ящуре территориями Монголии и Китая; а также необходимости межведомственного взаимодействия структур и налаживания системы оповещения.

Для определения роли дзеренов в распространении вируса ящура необходимо организовать постоянное слежение за миграцией диких животных с фиксацией состояния их здоровья, обязательным отбором и лабораторным исследованием проб от павших дзеренов, с детальным изучением выделяемых от них изолятов вируса на предмет установления генетического родства с изолятами, выделяемыми от диких и домашних животных на территории Монголии и Китая (пассивное наблюдение). Кроме того, в популяции дзеренов ежегодно следует проводить 2-кратный выборочный отбор проб биологического материала (активное наблюдение по ящуре и другим особо опасным инфекциям животных).

Описанные элементы системы надзора за ящуром необходимо применять при разработке методических рекомендаций и соответствующих планов мероприятий по наблюдению за особо опасными инфекциями животных в дикой фауне.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бойко А. А., Шуляк Ф. С. Ящур. Биолого-экологический аспект проблемы. – М.: Колос, 1971. – 352 с.
2. Восприимчивость диких и одомашненных животных к ящуре / А. М. Рахманов, А. А. Дороговцев, Т. З. Байбинов [и др.] // К новой стратегии борьбы с ящуром: материалы Междунар. конф. – Владимир. 1991. – С. 22–23.
3. Дашцэрэн Ц., Бадарч П., Хухоров В. М. Роль диких животных в эпизоотологии ящура // Профилактика и эффективная борьба с ящуром, а также создание высокоэффективных противоящурных вакцин: материалы симпозиума специалистов

Таблица 3

Результаты лабораторных исследований сывороток крови на наличие антител к неструктурным полипротеинам вируса ящура

Пробы от дзеренов	Антитела к NSP вируса ящура	Антитела к вирусу ящура типа 0	Антитела к вирусу ящура типа А	Антитела к вирусу ящура типа Азия-1
1	результат положительный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
2	результат положительный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
3	результат отрицательный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
4	результат отрицательный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
5	результат отрицательный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
6	результат положительный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
7	результат отрицательный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
8	результат отрицательный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
9	результат отрицательный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
10	результат положительный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
11	результат отрицательный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
12	результат отрицательный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
13	результат положительный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
14	результат положительный	обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
15	результат положительный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
16	результат отрицательный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
17	результат положительный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
18	результат отрицательный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
19	результат положительный	обнаружены	не обнаружены	не обнаружены
20	результат положительный	не обнаружены	не обнаружены	не обнаружены

стран – членов СЭВ (21–26 сент. 1981 г.). – Владимир, 1981. – С. 77–80.

4. Джупина С. И., Свиридов А. А. Ящур у лося в условиях эксперимента // Ветеринария. – 1965. – № 5. – С. 47–48.

5. Кирилук В. Е., Луцкина А. А. Современное состояние дзерена (*Procapra gutturosa*: Bovidae) в России // Nature Conservation Research. Заповедная наука. – 2017. – Т. 2 (Suppl. 1). – С. 81–99; DOI: 10.24189/ncr.2017.018.

6. Лозовой Д. А. Разработка и реализация системы противоящурных мероприятий в Российской Федерации и странах СНГ с учетом эпизоотической ситуации по ящуру в мире: автореферат дис. ... д-ра. вет. наук. – М., 2018. – 38 с.

7. Методические указания по отбору, консервированию и транспортировке проб патологического материала и продуктов убоя для лабораторной диагностики ящура / 24-05, В. В. Никифоров, Т. А. Фомина, С. Р. Кременчугская; ФГУ «ВНИИЗЖ». – Владимир, 2005. – 9 с.

8. Нуриев Г. П. Ящур у лосей Татарской АССР // Ученые записки Казанского вет. ин-та им. Н. Э. Баумана. – 1959. – Т. 74. – С. 55.

9. Роль диких жвачных животных в распространении ящура / А. В. Мищенко, В. А. Мищенко, В. М. Захаров [и др.] // Ветеринария. – 2012. – № 11. – С. 3–5.

10. Animal movements and the spread of infectious diseases / E. M. Fevre, B. M. de C. Bronsvoort, K. A. Hamilton, S. Cleaveland // Trends Microbiol. – 2006. – Vol. 14 (3). – P. 125–131; DOI: 10.1016/j.tim.2006.01.004.

11. Health evaluation of Mongolian gazelles (*Procapra gutturosa*) on the Eastern Steppes of Mongolia / S. L. Deem, M. J. Linn, W. B. Karesh [et al.] // Gnuletter. – 2001. – Vol. 20 (1). – P. 18–20.

12. Serosurveillance for foot-and-mouth disease in Mongolian gazelles (*Procapra gutturosa*) and livestock on the Eastern Steppe of Mongolia / S. Bolortsetseg, S. Enkhuvshin, D. Nyamsuren [et al.] // J. Wildlife Dis. – 2012. – Vol. 1 (48). – P. 33–38; DOI: 10.7589/0090-3558-48.1.33.

13. Sero-surveillance in the PCP of FMD – Experiences from West Eurasia / C. Pötzsch, N. Bulut, T. Aliyeva [et al.] // New tools and challenges for progressive control: Open Session of the EuFMD Research Group, Vienna (Austria), 29 September – 1 October 2010. – URL: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/eufmd/docs/Vienna_2010/040_App40_Serosurveillance_in_the_PCP.pdf.

Поступила 26.04.19

Принята в печать 24.05.19

FOOT AND MOUTH DISEASE EPIZOOTOLOGICAL SURVEILLANCE IN WILD ANIMAL POPULATION IN ZABAYKALSKY KRAI (RUSSIA) AS EXAMPLE

V. V. Nikiforov¹, T. V. Vadopalas², D. A. Lozovoy³, E. V. Kiriltsov⁴, V. P. Semakina⁵

¹ Head of Sector, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: nikiforov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3390-3209

² Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: vadopalas@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-6681-9364

³ Director, Candidate of Science (Veterinary Science), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: lozovoy@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5983-7062

⁴ Leading Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), East Siberia Veterinary Research Institute (East Siberia NIIV) – branch of Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnology of the Russian Academy of Sciences (SFRCA RAS), Chita, Russia, e-mail: kiriltsov.e.v@mail.ru

⁵ Head of Sector, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: semakina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-4078-4458

SUMMARY

Wild animals can be a potential source of livestock infectious diseases. This problem is particularly relevant in the areas of distant-pasture cattle rearing where wild and domestic animals often contact on pastures and near watering places. Therefore, dzerens (or Mongolian gazelles) migrating from the border areas of Mongolia and China to the Russian Federation can be the source of infection in wildlife. In this connection, the determination of the role of wild dzeren gazelles in the spread of foot and mouth disease is an urgent task. The paper presents information collection and epizootological data analysis with regard to dzeren migration from Mongolia to the the Zabaykalsky Krai (the Russian Federation) for the period of 1992–2018. The FMD epidemic situation in the the Zabaykalsky Krai (the Russian Federation), Mongolia, and China in 2005–2018 is given. FMD virus serotypes that caused outbreaks in the the Zabaykalsky Krai of the Russian Federation from 2006 to 2018 were correlated with the serotypes identified in Mongolia. Biomaterial samples from 20 dzerens were tested in the FGBI "ARRIAH" Laboratory and Diagnosis Center. The laboratory testing results have confirmed FMD virus circulation in the population of dzerens migrating to the border areas of the Russian Federation from the adjacent areas of Mongolia. The potential threat of the FMD virus introduction into the territory of the Zabaykalsky Krai of the Russian Federation by wild animals is specified. The necessity of arranging FMD surveillance system in the population of susceptible wild migratory animals is also justified.

Key words: foot and mouth disease, surveillance, wild migrating animals, dzerens.

INTRODUCTION

Due to the growing threat in recent years of the introduction into the Russian Federation of pathogens of a number of transboundary infectious animal diseases, in particular foot and mouth disease (FMD) from adjacent territories of Mongolia and China, it has become necessary to study the FMD epidemic situation among susceptible wild animals that can serve as FMD natural reservoir and, therefore, be a source of infection posing a threat to domestic animal husbandry.

Foot and mouth disease is a particularly dangerous, quarantine, highly contagious viral disease of domestic and wild hoofed and tylopoda animals. The disease is characterized by an acute course and generalized infection process [9]. 105 species of domestic and wild cloven-hoofed animals belonging to 33 genera and 14 orders are susceptible to foot and mouth disease [13].

There are many reports in foreign research papers and mass media on FMD cases among various species of wild cloven-hoofed animals and their significant role in the spread of FMD and other highly dangerous diseases among farm animals [10]. A number of research papers were devoted to the study of FMD susceptibility of wild animals [1–4, 8]. In the course of research FMD cases were identified in the wildlife (including zoos), that potentially proves that many wild animals can be susceptible to the virus and also be a source of infection [12].

Wild animals can pose a serious threat to livestock industry, as they present a closed ecological niche characterized by circulation of many pathogens of infectious and parasitic diseases, so the objective to clarify the role of wild dzeren antelopes in FMD spread is very important [11, 12].

Dzeren (*Procapra gutturosa*) is an ungulate of the genus *Procapra*, family *Bovidae*. It inhabits steppes and semi-deserts of Mongolia, as well as Inner Mongolia and Gansu Provinces of China. It is very rare in the territory of Russia, it is listed in the Red Data Book, it can be found in Dauria, in the Chuiskaya steppe (Gornyi Altai) and on the territory of the "Ubsunurskaya hollow" reserve (Republic of Tyva) when entering from Mongolia. Until the end of the 1930s dzerens were numerous in Tyva, but later the population declined sharply. At present, in Russia dzeren is generally found only in the Daurysky Reserve and its surroundings in the south of the Zabaykalsky Krai [5].

FMD occurs in dzerens latently, without pronounced clinical signs, and therefore these species can serve as a source of infection for a long time. In combination with the distant-pasture cattle rearing practiced in the border areas of a number of Subjects of the Russian Federation that share a common border with Mongolia and China, this exacerbates the risk of infection transmission from infected wild animals to livestock.

EPIDEMIC DATA ANALYSIS

As follows from the collected epidemic data, the dzeren population was completely exterminated in the Chita Oblast in the 70s of the last century, therefore this animal species is listed in the Red Data Book of the Russian Federation.

In 1992 a small group of gazelles was detected in the territory of the Daurysky nature reserve in the Ononsky

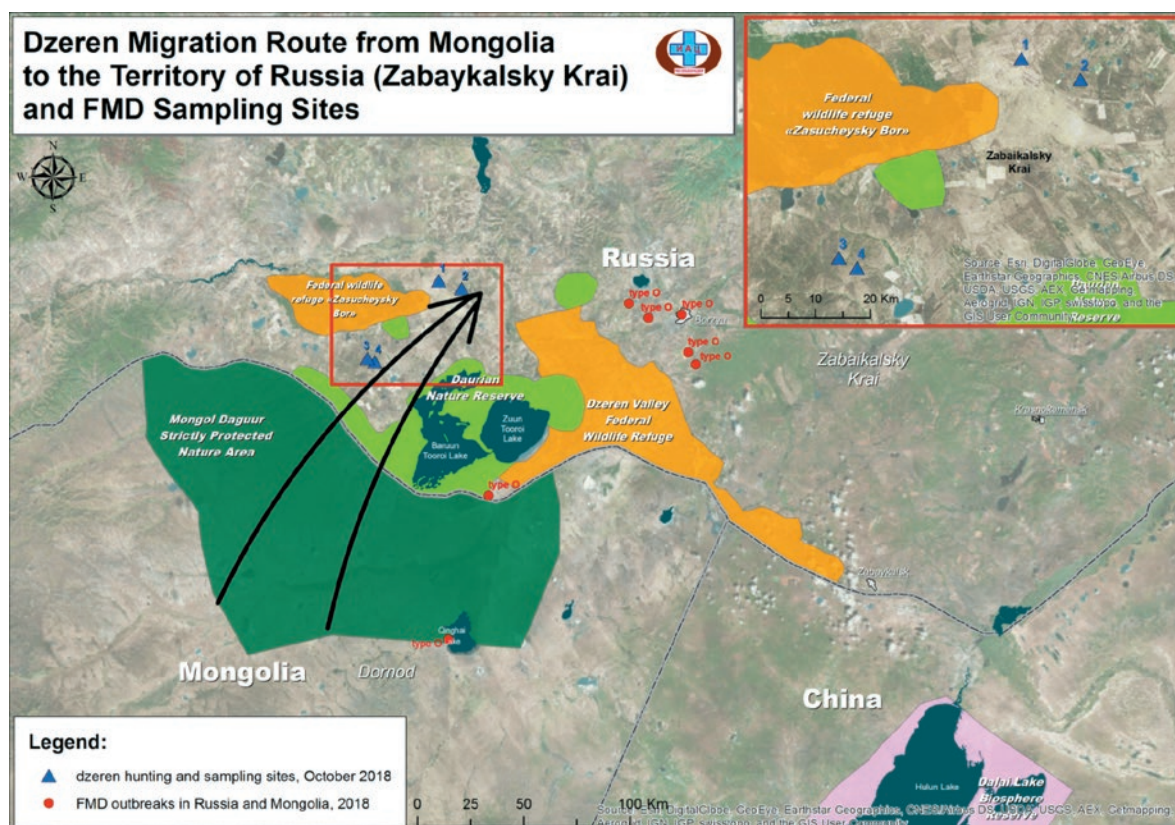


Fig. 1. Dzeren migration from Mongolia to the Zabaykalsky Krai (Russian Federation)

Raion of the Chita Oblast (later renamed the Zabaykalsky Krai), which slowly increased up to 80 animals by 2000. Herewith, the largest population of dzerens was found in the neighboring territories of Mongolia.

In January 2001 the first current mass migration of dzeren occurred from Mongolia to the territory of the Kirinsky Raion of the Zabaykalsky Krai due to very low temperatures (up to -47°C) and thick snow cover. The herds of up to 500 animals were located near the state border with Mongolia till the beginning of April 2001.

In February 2003 herds of gazelles consisting of up to 200 animals reappeared in the Kirinsky Raion in the steppe areas near the state border.

In the harsh winter 2009–2010 there was the largest migration of dzerens from Mongolia to Zabaykalye. About 15 thousand animals moved to the southeastern part of the Kirinsky Raion in mid-December 2009, and in January–February 2010 about 5 thousand more animals came in.

In December 2015 the employees of the Onon-Baldzhinsky National Park of Mongolia reported that a cluster of dzerens totaling about 50 thousand animals was seen in its territory and about a thousand animals migrated to the territory of the Russian Federation.

In mid-January 2016 herds of dzerens of 1000–2000 animals, about 50 thousand individuals in total, migrated to the Akshinsky and Ononsky Raions of the Zabaykalsky Krai.

In the second half of October 2018, herds of dzerens entered the territory of the Ononsky and Borzinsky Raions (Fig. 1).

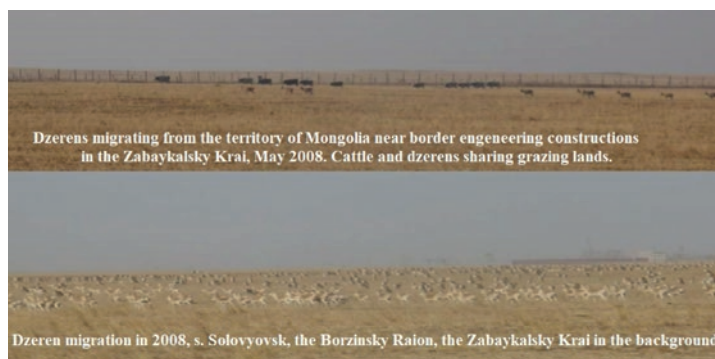
The dzerens migrating from Mongolia contact with the herds of those animals permanently inhabiting the Daurian Reserve (about 12,000 individuals). However, most animals move back to the territory of Mongolia from March to May.

According to the data provided by the employees of East Siberia NIIV – a branch of SFRCA RAS (Chita), the cattle were repeatedly observed sharing grazing lands with herds of dzerens migrating from Mongolia (Fig. 2).

Thus, dzeren migration from Mongolia to Russia in the period from 2001 to 2018 affected the territory of the Kirinsky, Akshinsky, Ononsky and Borzinsky Raions of the Zabaykalsky Krai (Fig. 3).

Table 1 presents data on FMD epidemic situation in the Zabaykalsky Krai of the Russian Federation, Mongolia and China in the period from 2005 to 2018, according to official data presented on the website of the World Organization for Animal Health (www.oie.int). The table shows the FMD virus serotypes reported in the three countries within approximately the same time period, taking into account the location of FMD outbreaks and identification of Mongolian

Fig. 2. Cattle share grazing lands with herds of dzerens migrating from Mongolia



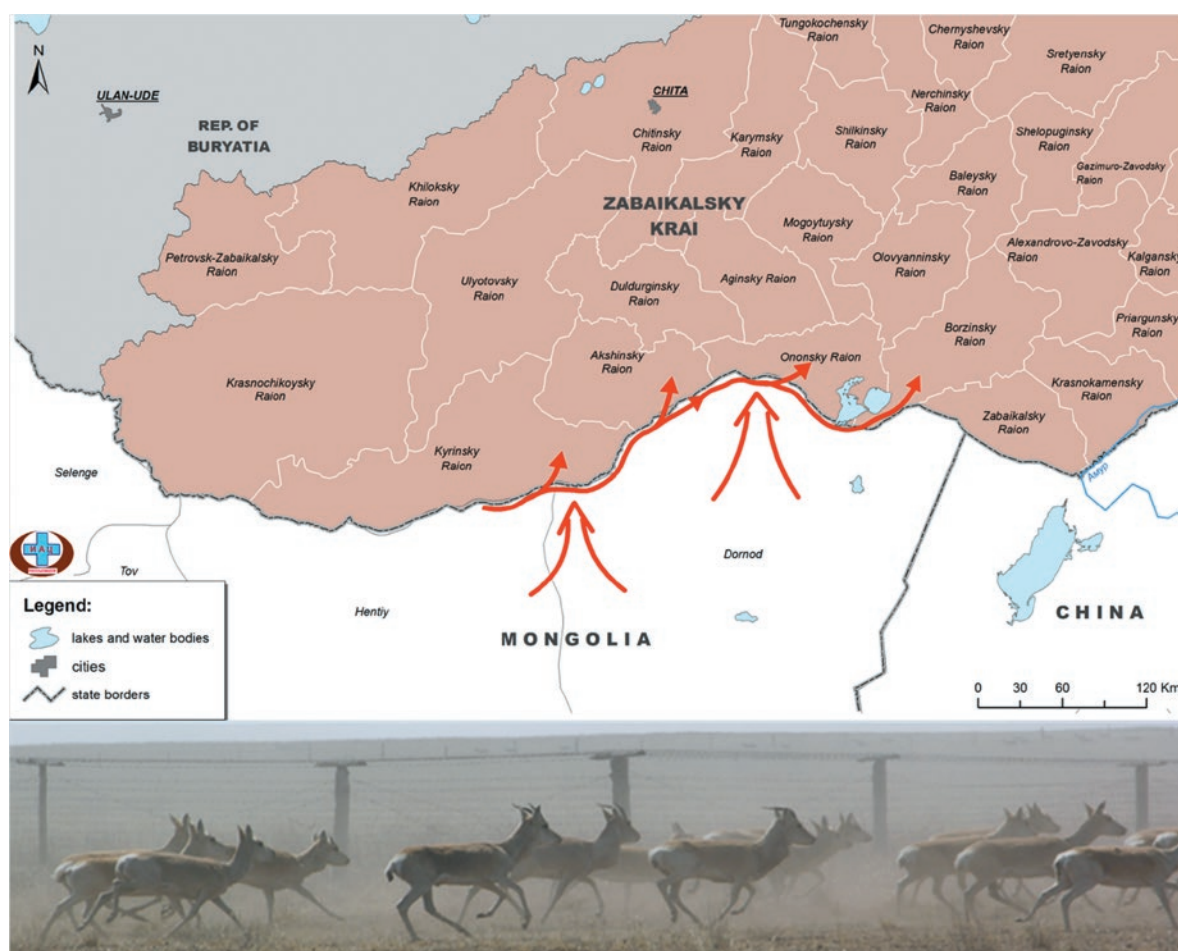


Fig. 3. Migration of dzerens from Mongolia to Russia in 2001–2018 in the territory of the Kirinsky, Akshinsky, Ononsky and Borzinsky Raions of the Zabaykalsky Krai

Table 1
Detection of FMD virus serotypes in Russia (the Zabaykalsky Krai), Mongolia and China in 2005–2018

Year	Russia (the Zabay- kalsky Krai), virus serotype	Mongolia		China	
		Aimak	Virus serotype	Province	Virus serotype
2005	–	Dornod*	Asia -1	Beijing, Gansu, Hebei, Jiangsu, Qinghai, Shandong, Xinjiang	Asia -1
2006	Asia-1	–	–	Chongking, Gansu, Hubei, Jiangsu, Ningxia, Qinghai, Tibet	Asia -1
2007– 2009	–	–	–	Guangxi, Guizhou, Hubei, Hunan, Jiangsu, Inner Mongolia, Shaanxi, Shandong, Shanghai, Sichuan, Xinjiang	Asia -1, A
2010	0	Dornod*, Govi-Sumber, Khentii*, Sukhbaatar, Tuv	0	Beijing, Gansu, Guangdong, Guizhou, Jiangxi, Ningxia, Qinghai, Shaanxi, Xinjiang, Tibet	A, 0
2011	0	–	–	Guizhou, Hubei, Ningxia, Xinjiang, Tibet	0
2012	–	–	–	Jiangsu, Liaoning, Ningxia, Tibet	0
2013	A	Bayan-Ulgii, Dornod*	A	Guangdong, Jiangsu, Qinghai, Sichuan, Xinjiang, Tibet, Yunnan	A
2014	A, 0	Dornogovi, Khentii*, Sukhbaatar	0	Jiangsu, Jiangxi, Tibet	A, 0
2015	–	Bayan-Ulgii, Khovd, Sukhbaatar	0	Anhui, Hubei	A
2016	0	Govi-Sumber	A	Guizhou, Jiangxi, Sichuan, Xinjiang	0
2017	–	Dornod*, Dornogovi, Dundgovi, Khentii*, Sukhbaatar	0	Guangdong, Guizhou, Xinjiang, Tibet	A, 0
2018	0	Arkhangai, Dornod*, Dornogovi, Dundgovi, Govi-Sumber, Khentii*, Sukhbaatar, Umnugovi	0	Anhui, Gansu, Guangdong, Guangxi, Guizhou, Henan, Hubei, Inner Mongolia, Ningxia, Shanxi, Xinjiang, Yunnan	A, 0

* Mongolian aimaks adjacent to Russia.

aimaks bordering on Russia, which are the main habitats of dzerens.

The analysis of the data in Table 1 shows that FMDV serotypes that caused the outbreaks in the Zabaykalsky Krai of the Russian Federation in 2006–2018 match with the serotypes reported in Mongolia, except for 2016, when the disease didn't occur in a Mongolian aimak but in the central part of the country. However, in 2007, 2008, 2009 and 2012 no FMD outbreaks were registered either in Mongolia or in the Zabaykalsky Krai of the Russian Federation.

MATERIALS AND METHODS

In October, 2018 samples were collected from dzerens which migrated from Mongolia to the territory of the state biosphere reserve "Daurisky" situated in Ononsky Raion of the Zabaykalsky Krai.

Since the Mongolian dzeren is listed in the Red Data Book, the Rosselkhoz nadzor Territorial Administration for the Zabaykalsky Krai obtained an authorization from the Rospirodnadzor (Federal Service for Supervision of Natural Resources) for a commission shooting of 20 animals in the presence of the Rospirodnadzor representatives and the staff of the reserve.

Shooting of animals was performed in 4 areas of the zone bordering on Mongolia at the distance of 20–80 km from utility facilities beyond the territory of the reserve 1–2 weeks after their migration from Mongolia to the Zabaykalsky Krai (according to the staff of the reserve) (Fig. 4). Sampling was carried out pursuant to "Methodical guidelines on sampling, preservation and transport of samples of pathological materials and products derived from slaughter for foot-and-mouth disease laboratory diagnostics" [7]. Immediately after sampling biomaterial

samples were frozen and transported to the FGBI "ARRIAH" in liquid nitrogen in a Dewar.

Those measures resulted in the collection of 20 serum samples and 76 biomaterial samples from 20 dzerens aged from 2 to 7 years (Table 2).

Serum was analyzed at the FGBI "ARRIAH" Testing Centre by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect antibodies to structural and non-structural proteins of foot-and-mouth disease virus (NSP). Biomaterials (pharyngeal mucosa, lymph nodes, tonsils) were analysed for FMD virus RNA and virus isolation was carried out (S. N. Fomina, A. V. Shcherbakov).

RESULTS AND DISCUSSIONS

Observation of animals did not reveal diseased, emaciated or straggler animals. No pathoanatomical changes typical for FMD were found during examination of killed animal carcasses (foot lesions including erosions and pododermatitis signs) (Fig. 5).

The analysis of samples taken from animals (16 males and 4 females) showed that serum from 10 animals (Nos 1, 2, 6, 10, 13, 14, 15, 17, 19 and 20) were positive for antibodies to non-structural FMD virus polypeptides (table 3). Samples collected at three sampling sites – 1, 3 and 4 – were positive. Besides, specific antibodies to FMD virus, type O (No. 14 and 19) were detected in the samples from two females from Pad Temety. The results suggest that dzerens had FMD of the given type, however, the viral RNA was not detected in biomaterial samples. Specific antibodies to FMD virus, type O, A and Asia-1 were not detected in other positive samples collected from 8 male dzerens (Nos 1, 2, 6, 10, 13, 15, 17 and 20).

It should be noted that in 2018 FMD outbreaks caused by type O virus were registered in bordering aimaks of

Fig. 4. Sites of biomaterial sample collection from 20 dzerens

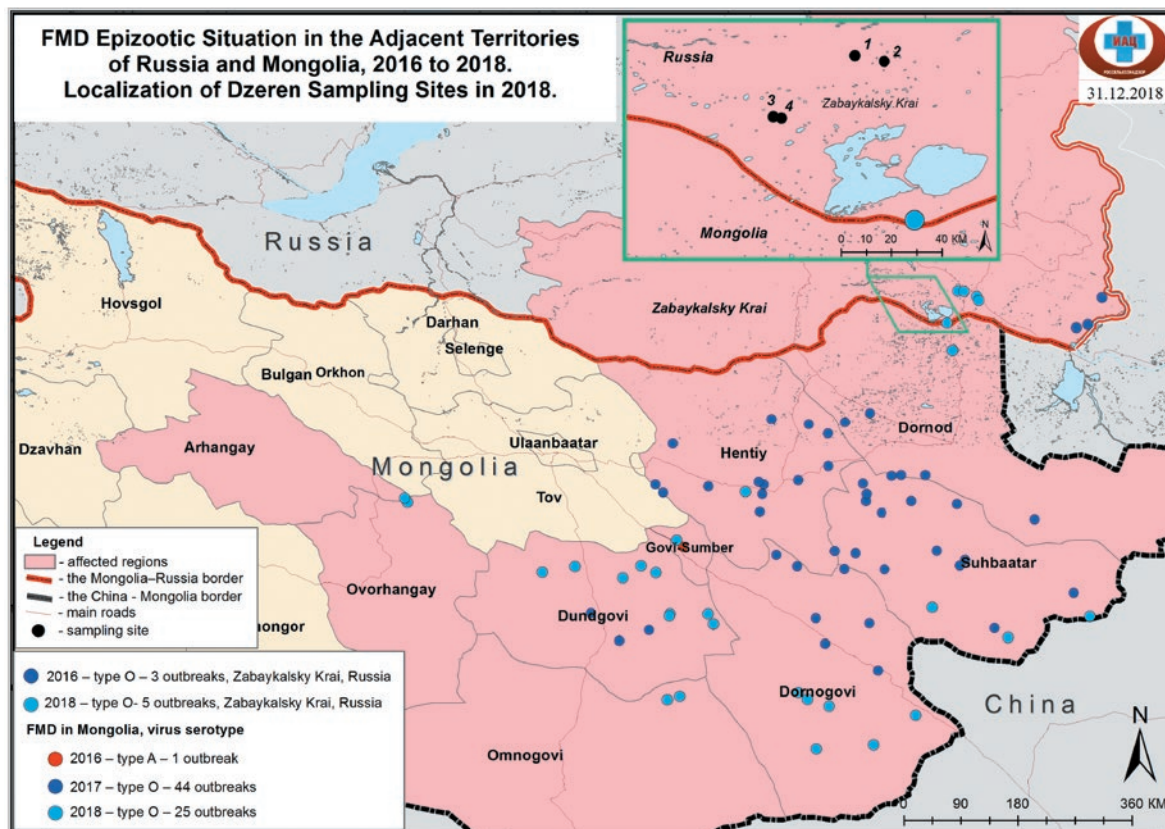


Table 2
Biomaterial samples collected from dzerens which migrated from Mongolia to Ononsky Raion of the Zabaykalsky Krai

Number of an animal	Sites of shooting and sampling, name of a sample	Age and gender of an animal	Date of sampling
1. Zasulan, near Novaya Zarya settlement			
1	serum, submandibular lymph nodes, pharyngeal mucosa	male 4–5 years	23.10.2018
2	serum, submandibular lymph nodes, pharyngeal mucosa, tonsils	male 4–5 years	
2. Zasulan, near Novaya Zarya settlement			
3	serum, submandibular lymph nodes, pharyngeal mucosa, tonsils, aortic lymph node, pancreas	male 6–7 years	23.10.2018
4	serum, submandibular lymph nodes, pharyngeal mucosa, tonsils	dam 3–4 years	23.10.2018
5	serum, submandibular and retropharyngeal lymph nodes, pharyngeal mucosa	male 2 years	23.10.2018
3. Krasnaya Imalka settlement			
6	serum, submandibular and retropharyngeal lymph nodes, pharyngeal mucosa	male 6–7 years	24.10.2018
7	serum, submandibular, retropharyngeal and mesenteric lymph nodes, pharyngeal mucosa	female 3–4 years	24.10.2018
8	serum, mandibular and mesenteric lymph nodes	male 6–7 years	24.10.2018
9	serum, mandibular and mesenteric lymph nodes	male 5–6 years	24.10.2018
10	serum, mandibular and mesenteric lymph nodes	male 5–6 years	24.10.2018
11	serum, mandibular and mesenteric lymph nodes	male 5–6 years	24.10.2018
12	serum, submandibular lymph nodes, pharyngeal mucosa	male 6–7 years	24.10.2018
4. Pad Temety, near Krasnaya Imalka settlement			
13	serum, submandibular lymph node, pharyngeal mucosa	male 5–6 years	25.10.2018
14	serum, submandibular lymph node, pharyngeal mucosa	female 4–5 years	25.10.2018
15	serum, submandibular lymph node, pharyngeal mucosa	male 5–6 years	25.10.2018
16	serum, submandibular lymph node, pharyngeal mucosa	male 6–7 years	25.10.2018
17	serum, submandibular lymph node, pharyngeal mucosa	male 5–6 years	25.10.2018
18	serum, submandibular lymph node, pharyngeal mucosa	male 4–5 years	25.10.2018
19	serum, submandibular lymph node, pharyngeal mucosa	female 3–4 years	25.10.2018
20	serum, submandibular lymph node, pharyngeal mucosa	male 6–7 years	25.10.2018
Total: 20 serum samples and 76 biomaterial samples			

Dornod and Khentii (Mongolia). In the same period five FMD outbreaks were registered in Borzinsky Raion of the Zabaykalsky Krai. Based upon the results of the phylogenetic analysis conducted at the FGBI "ARRIAH" FMD virus isolates

recovered from diseased animals in the Zabaykalsky Krai in 2018 were assigned to the phylogenetic line O/PanAsia which became widespread in Mongolia in 2017–2018. [6].

CONCLUSION

Upon the results of the work conducted in cooperation with the representatives of the East Siberia NIIV (branch of SFNCA RAS) and the Rosselkhoz nadzor of the Zabaykalsky Krai it was established that each year starting from 2001 dzerens migrated from Dornod aimak (Mongolia) to the Zabaykalsky Krai. The analysis of samples taken from the above-mentioned animals detected antibodies to FMD virus which attests to their infection and consequently to a possible circulation of FMD virus in herds under observation. This could cause introduction and occurrence of FMD in domestic animals in the Zabaykalsky Krai.

Taking into account the analysis of the epidemiological data within the period of 1992–2018 the results of the performed research can be recognized as grounds for introducing an FMD surveillance system in the wild in the Russian Federation on the borders with FMD infected areas in Mongolia and China as well as for a need of inter-agency cooperation and better alert system.

Fig. 5. Cut in the angle of heel of a dzeren's hoof. No signs of pododermatitis



Table 3

Results of laboratory analysis of serum for antibodies to non-structural polyproteins of FMD virus

Samples from dzerens	Antibodies to NSP of FMD virus	Antibodies to FMD virus, type O	Antibodies to FMD virus, type A	Antibodies to FMD virus, type Asia-1
1	positive result	not detected	not detected	not detected
2	positive result	not detected	not detected	not detected
3	negative result	not detected	not detected	not detected
4	negative result	not detected	not detected	not detected
5	negative result	not detected	not detected	not detected
6	positive result	not detected	not detected	not detected
7	negative result	not detected	not detected	not detected
8	negative result	not detected	not detected	not detected
9	negative result	not detected	not detected	not detected
10	positive result	not detected	not detected	not detected
11	negative result	not detected	not detected	not detected
12	negative result	not detected	not detected	not detected
13	positive result	not detected	not detected	not detected
14	positive result	detected	not detected	not detected
15	positive result	not detected	not detected	not detected
16	negative result	not detected	not detected	not detected
17	positive result	not detected	not detected	not detected
18	negative result	not detected	not detected	not detected
19	positive result	detected	not detected	not detected
20	positive result	not detected	not detected	not detected

To determine the role of dzerens in propagation of the FMD virus, a permanent monitoring of wild animal migration is to be organized with their health state record, obligatory sampling and laboratory research of samples from dead dzerens, careful examination of virus isolates recovered from them in order to determine their genetic affinity with isolates recovered from wild and domestic animals in Mongolia and China (passive surveillance). Besides, a double random sampling of biological material samples should be carried out in dzeren populations (active surveillance for FMD and other highly dangerous animal infections).

The elements of the FMD surveillance system described above should be applied for elaboration of methodical recommendations and relevant action plans for surveillance of highly dangerous animal infections in the wild.

Conflict of interests. The authors claim no conflict of interests.

REFERENCES

- Boiko A. A., Shulyak F. S. Foot-and-mouth disease. Biological and ecological aspect of the issue [Yashchur. Biologo-ekologicheskij aspekt problem]. M.: Kolos, 1971 (in Russian).
- Susceptibility of wild and domesticated animals to foot-and-mouth disease [Vospriimchivost' dikih i odomashennyykh zhivotnykh k yashchuru]. A. M. Rakhmanov, A. A. Dorogovtsev, T. Z. Baibikov [et al.]. *K novoj strategii bor'by s yashchurum: materials of the International Conference*. Vladimir. 1991; 22–23 (in Russian).
- Dashtseren Ts., Badarch P., Khukhorov V. M. Role of wild animals in epizootology of foot-and-mouth [Rol' dikih zhivotnykh v epizootologii yashchura]. *Profilaktika i effektivnaya bor'ba s yashchurum, a takzhe sozdanie vysokoeffektivnykh protivoyashchurnykh vakcin: materials of the symposium of CMEA Member States specialists (September 21–26, 1981)*. Vladimir, 1981; 77–80 (in Russian).
- Dzhupina S. I., Sviridov A. A. Foot-and-mouth disease in elks: experiment [Yashchur u losya v usloviyakh eksperimenta]. *Veterinariya*. 1965; 5: 47–48 (in Russian).
- Kirilyuk V. E., Lushchekina A. A. Current situation around dzerens (*Procavia gutturosa*: Bovidae) in Russia [Sovremennoe sostoyanie dzerena (*Procavia gutturosa*: Bovidae) v Rossii]. *Nature Conservation Research*. 2017; 2 (Suppl. 1): 81–99; DOI: 10.24189/ncr.2017.018 (in Russian).
- Lozovoy D. A. Development and implementation of anti-FMD system in the Russian Federation and CIS countries with consideration of FMD situation in the world [Razrabotka i realizatsiya sistemy protivoyashchurnykh meropriyatij v Rossijskoj Federacii i stranah SNG s uchedom epizooticheskoy situacii po yashchuru v mire]: author's abstract of the thesis ... Doctor of Sciences (Veterinary Medicine). M., 2018 (in Russian).
- Methodical guidelines on sampling, preservation and transport of samples of pathological materials and products derived from slaughter for foot-and-mouth disease laboratory diagnostics [Metodicheskie ukazaniya po otboru, konservirovaniyu i transportirovke prob patologicheskogo materiala i produktov uboya dlya laboratornoj diagnostiki yashchura]. 24-05, V. V. Nikiforov, T. A. Fomina, S. R. Kremenchugskaya; FGI "ARRIAH". Vladimir, 2005 (in Russian).
- Nuriev G. P. Foot-and-mouth disease in elks in Tatar ASSR [Yashchur u losje Tatarskoj ASSR]. *Uchenye zapiski Kazanskogo vet. in-ta. im. N. E. Baubana*. 1959; 74: 55 (in Russian).
- Role of wild ruminants in foot-and-mouth disease propagation [Rol' dikih zhivachnykh zhivotnykh v rasprostranении yashchura]. A. V. Mishchenko, V. A. Mishchenko, V. M. Zakharov [et al.]. *Veterinariya*. 2012; 11: 3–5 (in Russian).
- Animal movements and the spread of infectious diseases. E. M. Fevre, B. M. de C. Bronsvoort, K. A. Hamilton, S. Cleaveland. *Trends Microbiol*. 2006; 14 (3): 125–131; DOI: 10.1016/j.tim.2006.01.004.
- Health evaluation of Mongolian gazelles (*Procavia gutturosa*) on the Eastern Steppes of Mongolia. S. L. Deem, M. J. Linn, W. B. Karesh [et al.]. *Gnusletter*. 2001; 20 (1): 18–20.
- Serovigilance for foot-and-mouth disease in Mongolian gazelles (*Procavia gutturosa*) and livestock on the Eastern Steppe of Mongolia. S. Bolortsetseg, S. Enkhtuvshin, D. Nyamsuren [et al.]. *J. Wildlife Dis*. 2012; 1 (48): 33–38; DOI: 10.7589/0090-3558-48.1.33.
- Sero-surveillance in the PCP of FMD – Experiences from West Eurasia. C. Pötzsch, N. Bulut, T. Aliyeva [et al.]. *New tools and challenges for progressive control: Open Session of the EuFMD Research Group, Vienna (Austria), 29 September – 1 October 2010*. URL: http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/eufmd/docs/Vienna_2010/040_App40_Serovigilance_in_the_PCP.pdf.

Submitted on 26.04.19

Approved for publication on 24.05.19

РАЗРАБОТКА И УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ СЕРОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ

Д. В. Шарыпова¹, О. В. Капустина², И. Ю. Жуков³, Н. Н. Власова⁴, А. С. Иголкин⁵

¹ Сотрудник референтной лаборатории по АЧС, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: sharipova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-0999-5767

² Ведущий научный сотрудник, доктор ветеринарных наук, ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, Россия, e-mail: olgakapustina2010@yandex.ru; ORCID ID 0000-0002-7382-8656

³ Младший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: zhukov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-3817-2129

⁴ Главный научный сотрудник, доктор биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-8707-7710

⁵ Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: igolkin_as@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5438-8026

РЕЗЮМЕ

Ввиду отсутствия эффективных средств специфической профилактики африканской чумы свиней очевидно, что ранняя диагностика — один из важнейших и результативных способов борьбы с данной болезнью. Однако своевременная диагностика представляет собой наиболее сложную составляющую любой эффективно действующей системы надзора. Научные достижения последних десятилетий обусловили разработку не только высокоспецифичных и чувствительных методов лабораторной диагностики, но и быстрых в исполнении. Тем не менее дальнейшая разработка, усовершенствование и расширение арсенала методов лабораторной диагностики африканской чумы свиней, в том числе экспресс-тестов, является актуальной задачей, требующей особого внимания. Данное исследование посвящено разработке экспресс-методов, предназначенных для быстрого обнаружения антител к вирусу африканской чумы свиней в сыворотках крови инфицированных животных, а также анализу эффективности их применения. Предложены методы иммунопероксидазного монослойного анализа на основе фиксированных тест-препаратов (пермиссивной к вирусу африканской чумы свиней линии клеток CV-1, инфицированной штаммом вируса «АЧС/ВНИИЗЖ/CV-1») и реакции агглютинации латекса на основе рекомбинантного белка р30 вируса африканской чумы свиней. В результате проведенной работы установлена эффективность применения указанных методов для серологической диагностики африканской чумы свиней. Реакция агглютинации латекса и иммунопероксидазный монослойный анализ дают возможность быстро и качественно получать результаты исследований (в течение 1–2 ч). Преимущество указанных методов по сравнению с иммуноферментным анализом состоит также в простоте их постановки и в возможности использования в условиях ограниченного технического обеспечения.

Ключевые слова: африканская чума свиней, реакция агглютинации латекса, иммунопероксидазный тест, перевиваемая культура клеток CV-1, рекомбинантный белок р30, вирусный антиген.

DEVELOPMENT AND IMPROVEMENT OF ASF SEROLOGICAL DIAGNOSTIC TECHNIQUES

D. V. Sharypova¹, O. V. Kapustina², I. Yu. Zhukov³, N. N. Vlasova⁴, A. S. Igolkin⁵

¹ Specialist, ASF Reference Laboratory, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: sharipova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-0999-5767

² Leading Researcher, Doctor of Science (Veterinary Medicine), FGBSI FSC, FGBSI FNC VIEV RAN, Moscow, Russia, e-mail: olgakapustina2010@yandex.ru; ORCID ID 0000-0002-7382-8656

³ Junior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: zhukov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-3817-2129

⁴ Leading Researcher, Doctor of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-8707-7710

⁵ Head of the Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: igolkin_as@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5438-8026

SUMMARY

Due to the lack of effective tools of ASF specific prevention it is evident that early diagnosis is one of the most important and resultative ways of the disease control. However, contemporary diagnosis is a complex component of any effective surveillance system. Latest scientific achievements facilitated not only highly specific and sensitive but also rapid methods of laboratory diagnosis. Nevertheless, further development, improvement and expansion of ASF diagnosis techniques including rapid tests is a topical task of a great concern. The research is devoted to development of rapid test methods for rapid detection of antibodies to ASFV in blood sera of infected animals as well as to analysis of their use effectiveness. The following methods were suggested: immunoperoxidase monolayer assay using fixed cell line (ASFV permissive CV-1 cell-line infected with the virus strain ASF/ARRIAH/CV-1) and latex agglutination test using ASFV p30 recombinant protein. The performed research demonstrated the effectiveness of the applied techniques for ASF serological diagnosis. Latex agglutination test and immunoperoxidase monolayer assay give rapid and high quality test results (within 1–2 hours). The advantage of the specified methods as compared to ELISA is their simplicity and the possibility of use in conditions of limited technical support.

Key words: African swine fever, latex agglutination test, immunoperoxidase monolayer assay, CV-1 continuous cell line, p30 recombinant protein, virus antigen.

ВВЕДЕНИЕ

До настоящего времени эффективных средств специфической профилактики такого опасного заболевания, как африканская чума свиней (АЧС), не разработано, поэтому наличие специфических антител к вирусу АЧС является показателем ранее перенесенной или текущей инфекции [6]. В связи с этим особую важность в системе мер борьбы с АЧС имеет своевременная диагностика. При ее проведении происходит выявление возбудителя инфекционных болезней, его локализации, а также искоренения очага инфекции. Диагностика также является весьма эффективным средством для изучения особенностей патогенеза болезни [2, 9]. В связи с учащающимися случаями обнаружения изолятов вируса с ослабленными вирулентными свойствами и сниженной летальностью для свиней возникает все большая необходимость разработки новых и усовершенствования имеющихся методов серологической диагностики АЧС. Быстрое и надежное выявление возбудителя АЧС и специфических антител к нему является ключевым моментом для своевременного осуществления мероприятий по недопущению распространения болезни. Обобщая все вышеизложенное, можно сделать вывод о необходимости совершенствования серологических диагностических средств, в том числе методов экспресс-диагностики.

Для иммунологических методов исследования используют диагностикумы на основе реакции пассивной агглютинации. Это экспрессные иммунохимические тесты, сочетающие высокую специфичность и чувствительность с простотой постановки, быстрым получением ответа, не требующие применения сложной аппаратуры для регистрации полученных результатов. Такие методы широко используют в медицинской и ветеринарной практике [4, 5]. Тест-системы на основе реакции латексной агглютинации (РЛА) представляют собой суспензию полимерных микрочастиц латекса, которые содержат на своей поверхности специфические биоглианды, способные аффинно связываться с детектируемым компонентом (антигеном/антителом), образуя при этом агрегаты, которые легко визуализируются [1, 8].

Методы иммуноцитохимического анализа для выявления антител основаны на специфичности иммунологической реакции антиген-антитело и чувствительности светового микроскопа. Образующийся иммунный комплекс выявляется с помощью антивидовых антител, конъюгированных с ферментом-меткой. Иммунопероксидазный монослойный анализ (ИПМА) – это метод иммуноцитохимии с использованием фиксированных клеток пермиссивной линии, инфицированной соответствующим вирусом для выявления специфических антител. Преимуществами метода являются: простота подготовки тест-препаратов и возможность их длительного хранения; учет результатов реакции с помощью инвертированного светового микроскопа, который подходит для полевых условий; стабильность результатов окрашивания и длительное сохранение окраски препаратов [7].

На настоящий момент в нашей стране нет коммерческих наборов и тест-систем для выявления антител к вирусу АЧС на основе методов агглютинации латекса и иммунопероксидазного монослойного анализа. Использование РЛА и ИПМА может стать воспроизводимой и безопасной альтернативой традиционно используемым методам серологической лабораторной диагностики АЧС.

Разработка и применение быстрых, простых и доступных методов обнаружения специфических антител к вирусу АЧС может помочь в ускорении диагностики инфекции в условиях ограниченных ресурсов. Они позволят идентифицировать районы высокого риска, разработать соответствующие рекомендации по предупреждению появления и распространения болезни, а также могут способствовать быстрой идентификации и ликвидации источников АЧС в неблагополучных районах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реакция агглютинации латекса. Для создания специфического латексного диагностикума в качестве носителя использовали латекс – монодисперсные полистирольные частицы, имеющие средний диаметр 0,9–1,1 мкм (ДиаМ, Россия).

Прокариотически экспрессируемый рекомбинантный белок р30 вируса АЧС использовали в качестве специфического антигена для сенсибилизации полистирольных частиц латекса.

Реакцию проводили согласно общепринятой методике в иммунологических планшетах с U-образным дном (полуколичественный анализ) или на предметном стекле (качественный анализ). Сенсибилизированные частицы латекса смешивали с фосфатно-буферным раствором (PBS), положительной и отрицательной к вирусу АЧС сыворотками и наблюдали на предмет спонтанной и специфической агглютинации.

Качественный анализ проводили с применением проб сывороток крови свиней без предварительного разведения. Результат учитывали как отрицательный или положительный. При полуколичественном анализе сыворотки тестировали в серии повторных двукратных разведений в диапазоне от 1:20 до 1:5120. Результаты реакции учитывали в крестах: «++++» – крупнозернистая агглютинация на фоне прозрачной жидкости; «+++» – мелкозернистая агглютинация на полупрозрачном фоне; «++» – мелкозернистая агглютинация на мутном фоне; «+» – слабозаметная агглютинация на мутном фоне; «–» – отсутствие агглютинации, фон равномерно мутный. Положительным результатом считали агглютинацию на 2–4 креста; сомнительным – результат, при котором агглютинация оценивалась на один крест; отрицательным был результат, который характеризовался отсутствием агглютинации.

Иммунопероксидазный монослойный анализ. В качестве тест-препаратов использовали культуральные 96-луночные планшеты со сформированным монослоем клеток CV-1, инфицированных адаптированным к репродукции в культуре клеток CV-1 штаммом «АЧС/ВНИИЗЖ/СВ-1» вируса АЧС.

В качестве вторичных (антивидовых) антител использовали пероксидазный конъюгат IgG козы против иммуноглобулинов свиньи, рабочее разведение конъюгата готовили в блокирующем буферном растворе (pH 7,2–7,4).

Субстратный буфер готовили из 20 мг 3-амино-9-этилкарбазола, растворенного в 2,5 см³ диметилформамида (хранение при 4 ± 3 °C в темноте 1 мес.) на 0,05%-м ацетатном буфере с добавлением H₂O₂.

Оценку степени окрашивания проводили под контролем инвертируемого светового микроскопа. Результаты реакции оценивали по наличию и интенсивности красно-коричневого окрашивания мест специфиче-

ского взаимодействия антигена вируса АЧС и антител к нему, присутствующих в исследуемой сыворотке, при подсчете окрашенных инфицированных клеток в 10 произвольно выбранных полях зрения. Положительной считали сыворотку при наличии 20 и более процентов специфически окрашенных инфицированных клеток, при условии отсутствия подобного окрашивания в контрольных лунках. В качестве контрольных использовали лунки с сывороткой крови свиней и лунки с интактной культурой клеток CV-1.

Сыворотки крови свиней. В качестве положительно-го контроля использовали сыворотку крови от свиньи, переболевшей АЧС, полученную в ходе постановки биологической пробы на животных согласно методическим рекомендациям [3]. В качестве отрицательного контроля – полевую сыворотку крови свиньи, не содержащую антител к вирусу АЧС. Все контрольные сыворотки прошли предварительное тестирование в ИФА.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для конструирования антительного латексного диагностикума на основе рекомбинантного белка р30 вируса АЧС использовали 5–10%-ю суспензию мономерного полистирольного латекса с диаметром микросфер 0,9–1,1 мкм без функциональных групп.

Для сохранения нативной конформации и иммунной активности биолиганда его связывание с поверхностью микросфер проводили через «спейсер». В данном исследовании глутаровый альдегид выполнял ключевую роль мостика для ковалентного соединения частиц латекса и целевого белка.

Оптимальные параметры РЛА определяли шахматным титрованием различных концентраций рекомбинантного белка р30 в диапазоне от 500 до 10 мкг/мл для сенсibilизации 2,5% частиц латекса и двукратных разведений проб стандартной положительной к вирусу АЧС сыворотки крови и отрицательного контроля.

Наибольшую чувствительность РЛА (1:2560–1:5120) удалось получить при спонтанной адсорбции рекомбинантного белка р30 на поверхности полистирольных

микросфер при концентрации антигена 150 мкг/мл в 0,01 М PSB pH 7,2–7,4 (разведение 1:4) и 30 мкг/мл после обработки частиц латекса 0,05%-м раствором глутарового альдегида на 0,01 М PSB pH 7,2–7,4 (разведение 1:16). Эти разведения рекомбинантного белка р30 обеспечивали концентрацию антигена, достаточную для сенсibilизации частиц латекса, которая не препятствовала реакции.

Для постановки реакции агглютинации латекса в лунки планшета для иммунологических реакций с U-образным дном вносили 0,025 см³ испытуемой сыворотки и 0,025 см³ нагруженных частиц латекса. Время появления результатов реакции 5–15 мин, для получения окончательного результата требуется 30–60 мин. Наблюдаемая агглютинация частиц латекса хорошо видна невооруженным глазом на темном фоне или под малым увеличением микроскопа (рис. 1).

Проведенные исследования показали, что связывание с поверхностью микросфер через «спейсер» (глутаровый альдегид) оказалось сильнее и стабильнее, чем традиционная спонтанная адсорбция латексных частиц биолигандом, а использование глутарового альдегида обеспечило лучшую адсорбцию антигена на частицах латекса без увеличения неспецифического связывания антител и сорбированного на латексе рекомбинантного антигена.

При подборе условий иммобилизации рекомбинантного белка р30 вируса АЧС на латексных частицах были использованы различные температурные режимы и время инкубации. Установлено, что для сорбции полистирольного латекса рекомбинантным белком р30 в концентрации 30 нг/мкл в 0,05%-м растворе глутарового альдегида на 0,01 М PSB pH 7,2–7,4 оптимальной является температура +37 °С, время – 6 ч. Результаты исследования представлены в таблице 1.

Из данных, представленных в таблице 1, можно сделать вывод, что экспозицию 6 ч при температуре +37 °С можно считать оптимальной, так как дальнейшее увеличение времени иммобилизации не привело к значительному увеличению чувствительности РЛА.

Таким образом, в результате работы подобраны оптимальные условия сенсibilизации латексных частиц рекомбинантным белком р30.

Методом латекс-агглютинации протестировано 30 положительных и 20 отрицательных (по данным ИФА) сывороток крови свиней. Результаты постановки РАЛ при этом на 100% совпадали с результатами, полученными при исследовании указанных сывороток крови методом твердофазного ИФА. Таким образом, разработанный метод РАЛ позволяет эффективно и быстро определять наличие антител к вирусу АЧС в сыворотках крови свиней.

В рамках дальнейшей разработки и усовершенствования диагностических тестов были изготовлены фиксированные тест-препараты для постановки реакции ИПМА. Перед добавлением исследуемых сывороток крови свиней тест-препараты промывали однократно PBS (pH 7,2). Серийные 2-кратные разведения сывороток (от 1:10 до 1:640) вносили в планшет (2 лунки/разведение), которые инкубировали в течение 60 мин при 37 °С на шейкере. После трехкратного промывания PBS во все лунки добавляли по 100 мкл козьих IgG к иммуноглобулину свиньи или протеин А, конъюгированные с пероксидазой. Планшеты инкубировали при 37 °С в течение 45 мин. После 3-кратного промывания

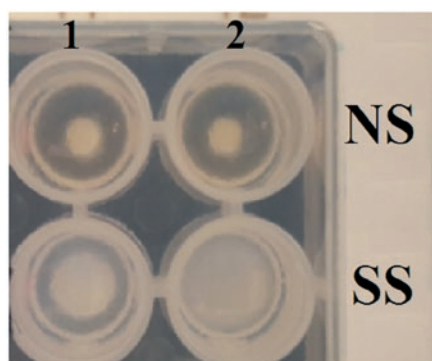


Рис. 1. Выявление специфических антител к вирусу АЧС в РЛА

Столбцы: № 1 – латексный диагностикум, приготовленный методом пассивной адсорбции; № 2 – латексный диагностикум, приготовленный методом ковалентной связи (глутаровый альдегид); NS (верхний ряд) – нормальная сыворотка свиней; SS (нижний ряд) – специфическая контрольная сыворотка, положительная к вирусу АЧС.

Таблица 1

Зависимость результатов реакции латекс-агглютинации от времени экспозиции

Разведение сыворотки	Время экспозиции (час)						
	2	3	4	5	6	7	8
1:10	+	++	+++	++++	++++	+++++	+++++
1:20	+	+	++	+++	++++	+++++	+++++
1:40	–	+	++	+++	+++	++++	+++
1:80	–	+	++	++	+++	+++	+++
1:160	–	–	+	++	+++	++	+++
1:320	–	–	–	+	++	++	++
1:640	–	–	–	–	–	+	–
1:1280	–	–	–	–	–	–	–

Температура экспозиции +37 °С, концентрация рекомбинантного белка р30 для РЛА 30 мкг/мл.

в лунки планшета добавляли по 100 мкл субстратного буфера. Цветной реакции давали развиваться в течение 20 мин, затем планшеты один раз промывали PBS и исследовали под световым инвертируемым микроскопом.

Специфические антитела к вирусу АЧС методом ИПМА удалось выявить в сыворотках в разведении от 1:20 до 1:160 без обнаружения неспецифической фоновой реакции.

Выявление специфического взаимодействия антигенов к вирусу АЧС в сыворотках крови свиней с антигенами вируса АЧС в культуре клеток CV-1 представлено на рисунке 2.

На рисунке видно, что специфическое пероксидазное окрашивание выявлено только в результате взаимодействия инфицированной культуры клеток CV-1 с сыворотками крови свиней, положительных к вирусу АЧС, и не выявлено с сыворотками, не содержащими антител к вирусу.

Помимо отрицательных к вирусу АЧС сывороток крови свиней, на изготовленных тест-препаратах были испытаны сыворотки крови свиней, положительные к гетерологичным вирусным инфекциям (КЧС, грипп свиней) в различных разведениях. В результате постановки иммунопероксидазной реакции с указанными

сыворотками специфического взаимодействия с антигенами выявлено не было. Результаты постановки реакции ИПМА с различными сыворотками представлены в таблице 2.

Из результатов, представленных в таблице, видно, что специфическое окрашивание клеток в результате постановки реакции наблюдалось в лунках с зараженной культурой клеток при добавлении специфической сыворотки крови свиньи к вирусу АЧС до разведения 1:160. В лунках с незараженной культурой клеток, нормальными сыворотками свиньи и кабана, а также с сыворотками к гетерологичным вирусным инфекциям (КЧС, грипп свиней) окрашивания выявлено не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная и представленная в данной работе методика постановки РЛА с использованием рекомбинантного белка р30 является специфичным и чувствительным, быстрым и простым в исполнении методом, не требующим специального оборудования и высокой квалификации персонала, экономически выгодным и тем самым наиболее приемлемым в ветеринарной практике для полевого серологического мониторинга АЧС. Таким образом, РЛА на основе рекомбинантного белка р30 эффективна при диагностических исследова-

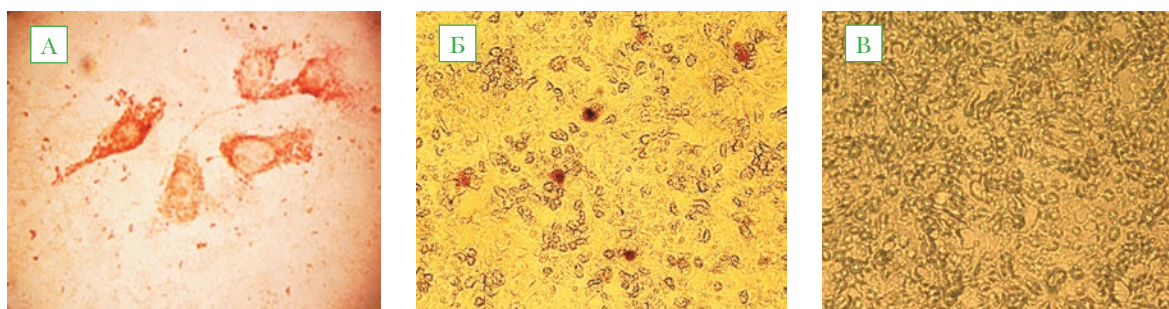


Рис. 2. Выявление специфических антител к вирусу АЧС в сыворотках крови свиней в ИПМА

А – положительное иммунопероксидазное окрашивание инфицированных клеток, увеличение $\times 400$;Б – положительная реакция со специфической сывороткой в разведении 1:40, увеличение $\times 200$;В – отрицательная реакция с нормальной сывороткой крови свиньи в разведении 1:40, увеличение $\times 200$.

Таблица 2

Выявление антител к вирусу АЧС в сыворотках крови свиней в ИПМА

Разведение сыворотки № столбца	NS свиной		SS к вирусу АЧС №1		NS кабана		SS к вирусу КЧС		SS к вирусу гриппа свиней		SS к вирусу АЧС №2	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1:20	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+
1:40	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+
1:80	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+
1:160	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–
1:320	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
1:640	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Нечетные столбцы – незараженная культура клеток (контроль);

четные столбцы – зараженная культура клеток;

«+» и окрашенные ячейки – специфическое окрашивание клеток в лунках;

«–» – окрашивание отсутствует.

ниях и исключает необходимость работы с инфекционным вирусным материалом.

Метод ИПМА также имеет ряд преимуществ. В их числе простота подготовки планшетов с инфицированными вирусом клетками и сохранность их в течение длительного времени. Кроме того, тест дает возможность простой и объективной интерпретации результатов с использованием в качестве оборудования только инвертированного светового микроскопа. Результат окрашивания является стабильным, и окрашенные образцы могут храниться в течение нескольких месяцев.

Таким образом, РЛА и ИПМА являются простыми, быстрыми и воспроизводимыми методами, сопоставимыми с эталонными методами диагностики АЧС, и подходят для использования в регионах с ограниченными лабораторными возможностями. Тесты имеют потенциал как недорогие альтернативные методы для обнаружения и оценки низких и высоких уровней специфических антител к АЧС при единичных и скрининговых (мониторинговых) исследованиях, в том числе в полевых условиях.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бровкина А. Н. Разработка метода и тест-системы выявления бактерий рода *Salmonella* на основе латекс-агглютинации // Научный журнал КубГАУ. – 2011. – № 72 (08). – URL: <http://ej.kubagro.ru/2011/08/pdf/31.pdf>.
- Макаров В. В. Африканская чума свиней. – М.: РУДН, 2011. – 268 с.
- Методические указания по получению типоспецифической сыворотки крови свиней к вирусу африканской чумы свиней для постановки реакции задержки гемадсорбции: утв. Россельхознадзором в 2017 г. / МУ 07-15; ФГБУ «ВНИИЗЖ». – Владимир, 2017. – 15 с.
- Станишевский Я. М. Полимерные дисперсные системы медико-биологического назначения: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2001. – 23 с.
- Чайка Н. А. Реакция агглютинации латекса // Иммунологическая диагностика вирусных инфекций / Ф. С. Носков, А. А. Смородинцев, Ю. М. Бродянский [и др.]; под ред. Т. В. Перадзе, П. Халонена. – М.: Медицина. – 1985. – С. 121–143.
- African swine fever // Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees) / OIE. – 7th ed. – Paris, 2012. – Vol. 2, Chap. 2.8.1. – P. 1067–1079.

- Development of an immunoperoxidase monolayer assay for the detection of antibodies against peste des petits ruminants virus based on BHK-21 cell line stably expressing the goat signaling lymphocyte activation molecule / J. Zhang, W. Liu, W. Chen [et al.] // PLoS ONE. – 2016. – Vol. 11 (10):e0165088; DOI: 10.1371/journal.pone.0165088.

- Hechemy K., Michaelson E. Latex particle assays in laboratory medicine. Part I–II // Laboratory Management. – 1984. – Vol. 27 (40). – P. 26–34.

- Molecular characterization of African swine fever virus isolates originating from outbreaks in the Russian Federation between 2007 and 2011 / A. Malogolovkin, A. Yelsukova, C. Gallardo [et al.] // Vet. Microbiol. – 2012. – Vol. 158 (3–4). – P. 415–419; DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.03.002.

REFERENCES

- Brovkina A.N. Development of *Salmonella* detection method and test-system using latex agglutination [Razrabotka metoda i test-sistemy vyvayleniya bakterij roda *Salmonella* na osnove lateks-agglyutinacii]. *Scientific Journal KubSAU*. 2011; 72 (08). URL: <http://ej.kubagro.ru/2011/08/pdf/31.pdf> (in Russian).
- Makarov V. V. African swine fever [Afrikanская чума свиней]. M.: RUDN, 2011 (in Russian).
- Methodical instructions for preparation of type-specific pig blood serum to ASFV for hemadsorption inhibition test performance: approved by the Rosselkhoz nadzor in 2017 [Metodicheskie ukazaniya po polucheniiyu tipospecificheskoj syvorotki krovi svinej k virusu afrikanской chumy svinej dlya postanovki reakcii zaderzhki gemadsorbicii: utv. Rossel'hoznadzorom v 2017 g.]. MU 07-15; FGBU "ARRIAH". Vladimir, 2017 (in Russian).
- Stanishevsky Ya. M. Biomedical polymer disperse systems [Polimernye dispersnye sistemy mediko-biologicheskogo naznacheniya]: authors extract. dis. ... candidate of science (Biology). M., 2001 (in Russian).
- Chaika N. A. Latex agglutination test [Reakciya agglyutinacii lateksa]. *Immunodiagnosis of viral infections [Immunologicheskaya diagnostika virusnyh infekcij]*. F. S. Noskov, A. A. Smoroditsev, Yu. M. Brodyansky [et al.]; ed. by T. V. Peradze, P. Halonen. M.: Medicine. 1985; 121–143 (in Russian).
- African swine fever. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees)*. OIE. 7th ed. Paris, 2012; 2 (2.8.1): 1067–1079.
- Development of an immunoperoxidase monolayer assay for the detection of antibodies against peste des petits ruminants virus based on BHK-21 cell line stably expressing the goat signaling lymphocyte activation molecule. J. Zhang, W. Liu, W. Chen [et al.]. *PLoS ONE*. 2016; 11 (10):e0165088; DOI: 10.1371/journal.pone.0165088.
- Hechemy K., Michaelson E. Latex particle assays in laboratory medicine. Part I–II. *Laboratory Management*. 1984; 27 (40): 26–34.
- Molecular characterization of African swine fever virus isolates originating from outbreaks in the Russian Federation between 2007 and 2011. A. Malogolovkin, A. Yelsukova, C. Gallardo [et al.]. *Vet. Microbiol*. 2012; 158 (3–4): 415–419; DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.03.002.

Поступила 06.05.19

Принята в печать 24.05.19

ИЗУЧЕНИЕ РЕПРОДУКЦИИ ВИРУСОВ ОСПЫ ОВЕЦ И ОСПЫ КОЗ В ПЕРВИЧНЫХ И СУБКУЛЬТИВИРУЕМЫХ КЛЕТКАХ

А. Б. Сарбасов¹, Б. Л. Манин², Р. В. Яшин³, И. Н. Шумилова⁴, В. И. Диев

¹ Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: sarbasov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1742-7989

² Ведущий научный сотрудник сектора культуры клеток, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: manin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5263-1491

³ Заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: yashin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1385-705X

⁴ Ведущий ветврач, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shumilova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-6132-5771

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты экспериментальных исследований по репродукции вирусов оспы овец и оспы коз в первичных и субкультивированных культурах клеток, полученных из почек и тестикул ягненка и козленка. Субкультивирование монослойных культур клеток проводили в пластиковых флаконах в течение пяти пассажей и заражали вирусами оспы овец и оспы коз. Показано, что производственные штаммы «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец и «ВНИИЗЖ 2003» вируса оспы коз успешно размножаются как в первичной культуре, так и в субкультуре клеток почки и тестикул ягненка и козленка. Активность полученных вирусов оспы овец и оспы коз после пяти пассажей достигала $5,5-6,0 \text{ Ig TCID}_{50}/\text{cm}^3$. Учитывая, что современные условия выращивания клеток позволяют субкультивировать первично трипсинизированные популяции до 25–30 пассажей, для получения в производственных масштабах вирусов оспы коз, оспы овец и в научных исследованиях наряду с перевиваемыми линиями можно использовать и субкультуры.

Ключевые слова: субкультуры тканей тестикул и почек овец и коз, вирус оспы овец, вирус оспы коз, цитопатическое действие.

UDC 619:578.831.2:636.3:57.082.26

TESTING SHEEP AND GOAT POX VIRUSES FOR THEIR REPRODUCTION IN PRIMARY AND SUBCULTURED CELLS

A. B. Sarbasov¹, B. L. Manin², R. V. Yashin³, I. N. Shumilova⁴, V. I. Diev

¹ Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: sarbasov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1742-7989

² Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), Cell Culture Unit, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: manin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5263-1491

³ Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: yashin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1385-705X

⁴ Leading Veterinarian, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shumilova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-6132-5771

SUMMARY

Results of tests of sheep and goat poxviruses for their reproduction in primary and subcultured cell cultures derived from lamb and goat kid kidneys and testicles are presented. Monolayer cultures were subcultured by 5 passages in plastic vials and infected with sheep and goat poxviruses. It was shown that production ARRIAH strain of sheep pox virus and ARRIAH 2003 strain of goat pox virus successfully propagated both in primary lamb and goat kid kidney and testicle cell cultures and lamb and goat kid kidney and testicle cell subcultures. Activity of sheep and goat poxviruses passaged 5 times was $5.5-6.0 \text{ Ig TCID}_{50}/\text{cm}^3$. Taking into account that modern cell cultivation conditions allow primary trypsinized cell populations subcultivation up to 25–30th passage, subcultures together with continuous cell lines can be used for large-scale sheep and goat poxvirus production and research purposes.

Key words: sheep and goat kidney and testicle tissue subcultures, sheep poxvirus, goat poxvirus, cytopathic effect.

ВВЕДЕНИЕ

Оспа овец и оспа коз – вирусные заболевания, характеризующиеся лихорадкой, образованием папул, или узелков, пустул (редко), внутренних поражений (в частности, в легких), часто с летальным исходом. Оспа овец и коз вызывает энзоотии в Африке к северу от экватора – на Среднем Востоке и в Азии [1]. Вспышки (эпизоотии) этих болезней недавно зафиксированы в некоторых частях Европы. Страны, заявившие о вспышках болезни в период с 2010 по 2015 г., – Болгария, Китайский Тайбэй, Израиль, Казахстан, Кыргызстан, Монголия, Марокко, Греция и Россия. В Греции, Израиле и России наблюдались рецидивы болезни [13]. По данным Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), в 1996–2007 гг. неблагополучными по этим заболеваниям были 55 стран, в том числе 7 стран СНГ. В РФ оспа мелких жвачных регистрировалась в 1994–2000 и 2002–2003 гг. [3, 9, 10].

Возбудители оспы овец и оспы коз – вирус оспы овец (ВОО) и вирус оспы коз (ВОК) – относятся к роду *Capripoxvirus* семейства *Poxviridae* [14].

Несмотря на то что каприпоксвирусы преимущественно поражают свой вид животных-хозяев, жестко детерминированной специфичностью они не обладают и способны инфицировать гетерологичные виды животных. В литературных источниках описана способность штаммов ВОО и ВОК в экспериментальных условиях вызывать заболевание как у овец, так и у коз [11, 12].

Опасность болезни заключается в высокой контагиозности и летальности, которая при доброкачественном течении составляет 5–10% и достигает 80–100% в случае проявления сопутствующих инфекций [2].

Для изготовления вакцин и диагностикумов из ВОО и ВОК уже много лет используют как первичные и субкультивируемые клетки, так и перевиваемые (постоянные) культуры клеток. Использование трофовариантов культур клеток имеет как свои преимущества, так и некоторые недостатки. Так, перевиваемые линии более технологичны и используются для производства вакцин, а первичные и субкультивируемые клетки предпочтительнее для наработки посевных материалов вируса и для диагностических целей [8].

В связи с вышеизложенным представляется целесообразным наличие в арсенале научных и производственных лабораторий нескольких культуральных систем для выращивания вирусов, которые бы дополняли и заменяли друг друга.

Целью данной работы было изучение репродукции вируса оспы овец и вируса оспы коз в первичных и субкультивируемых клетках, полученных из почек и тестикул барана (*Ovis aries*) и козла (*Capra hircus*).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусный материал. В работе использовали производственный штамм «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец с инфекционной активностью $5,5 \pm 0,25 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ и производственный штамм «ВНИИЗЖ 2003» вируса оспы коз с инфекционной активностью $6,0 \pm 0,25 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, полученные на клеточной линии ЯДК-04.

Культура клеток. Культивирование вирусов проводили в первично трипсинизированной культуре клеток, а также в субкультурах 2–5 пассажей почки и тестикул ягненка. В опыте использовали субкультуры 2–5 пассажей почки и тестикул козленка, которые были получены в 2006 г. и хранились в жидком азоте. Возраст животных составлял 4–6 недель. Клеточные культуры инкубировались при температуре $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Определение биологической активности полученных вирусных материалов проводили в реакции микротитрования с использованием постоянной клеточной линии ЯДК-04.

Питательные среды и растворы. В качестве ростовой среды для субкультур клеток использовали смесь питательных сред ПСП и 199 в соотношении 3:1 с добавлением 10% сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС), обработанной лантаноидами, и pH 7,0–7,2.

В качестве поддерживающей среды для вируса использовали питательную среду ПСП с 2% инактивированной при 58°C в течение 30 мин сыворотки крови КРС (pH 7,3–7,5). Перед инокуляцией вируса монослой клеток промывали солевым раствором Хенкса с pH 7,1–7,2. Коррекцию pH среды в процессе культивирования вируса проводили 7,5%-м раствором бикарбоната натрия.

Для предотвращения бактериального пророста в питательную среду и в раствор Хенкса добавляли 100 ед./мл канамицина и 40 ед./мл гентамицина.

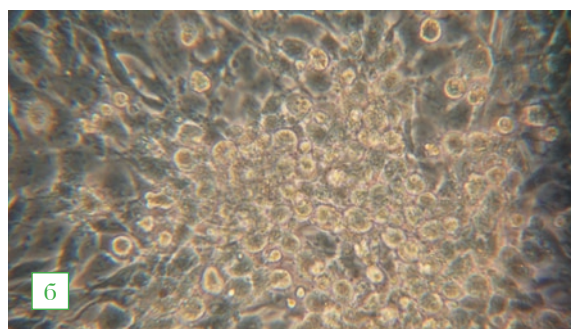
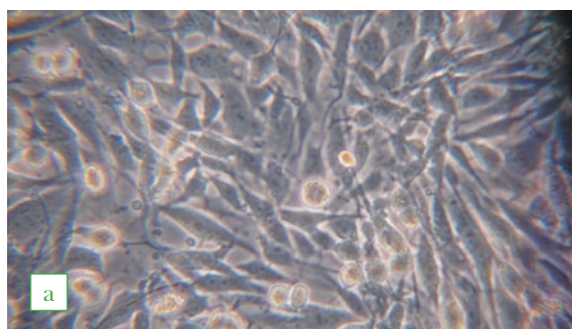
Оборудование. Лабораторное культивирование клеток проводили во флаконах фирмы Corning (США) с площадью роста 25 см^2 .

Цитоморфологические изменения в культуре при взаимодействии с вирусом ежедневно изучали и фиксировали в фазовом контрасте на микроскопах Olympus CKX-41 и Zeiss IM при увеличении в 100 и 400 крат. Все рисунки были сделаны с увеличением $\times 400$ через 48–72 ч.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения репродукции ВОО и ВОК проводилось перекрестное заражение обоими вирусами первичных и субкультивируемых клеток, полученных как из органов естественных хозяев, так и из органов близкородственных видов: для ВОО – это коза, а для ВОК – овца.

Рис. 1. Монослой культуры клеток ЯДК-04 (а) и проявление ЦПД после заражения вирусами оспы овец и оспы коз (б)



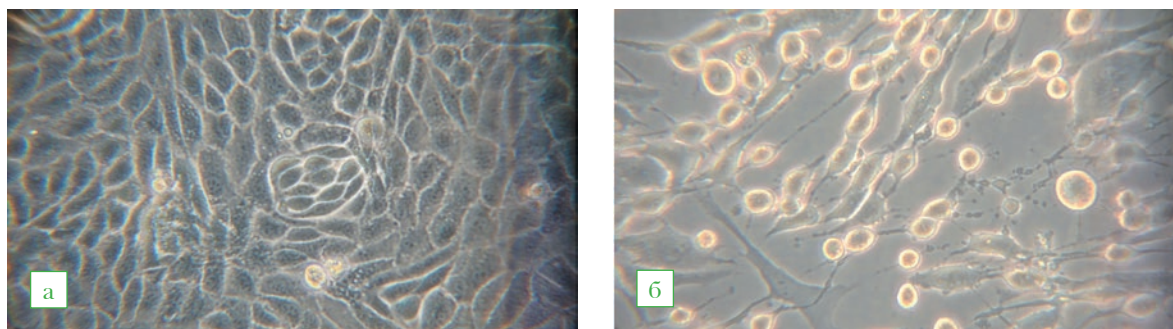


Рис. 2. Монослой первичной культуры ПБ (а) и проявление ЦПД вируса оспы овец (б)

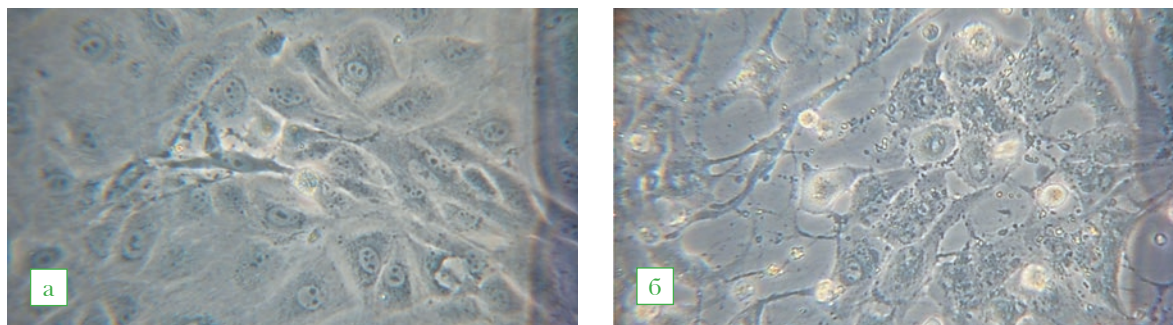


Рис. 3. Монослой субкультивируемых клеток ПК (а) и проявление ЦПД вируса оспы овец (б)

Нужно отметить, что для крупномасштабного производства вакцин против оспы овец и оспы коз стандартно используется постоянная клеточная линия ЯДК-04. Было подробно изучено цитопатическое действие (ЦПД) этих вирусов на клетки и монослой в целом [7]. Клеточная линия ЯДК-04 обладает высокой продуктивностью (до 30 тыс. клеток на см^2). Нормальная морфология представлена в основном однородными веретенообразными и эпителиоподобными клетками; делящиеся клетки перед митозом принимают сферическую форму, и при этом видны расходящиеся хромосомы (рис. 1а). При взаимодействии культуры с ВОО и ВОК картина ЦПД одинакова: основная масса клеток деадгезируется, принимает сферическую форму и частично агрегируется (рис. 1б). На этой стадии через 72 ч клетки промораживают и в дальнейшем получают вирус с высоким титром (см. таблицу).

В отличие от перевиваемой линии ЯДК-04 первичные культуры и субкультуры, полученные из почек и тестикул козлят и ягнят, отличаются полиморфизмом клеток и низкой продуктивностью. В среднем продуктивность первичной и субкультуры в 3–4 раза ниже, чем у перевиваемых линий, но первичные культуры – диплоидные и обладают биологическими свойствами организмов-доноров.

Было изучено 8 вариантов взаимодействия вирусов оспы овец и коз с первичными культурами и субкультурами почек и тестикул овец и коз.

Морфология первичной культуры и субкультуры почки барана (ПБ) отличалась наличием крупных полиморфных клеток с четкими границами (рис. 2а). Культура обладала умеренным гликолизом, значение рН среды в процессе культивирования не опускалось ниже 6,8.

Цитопатическое действие ВОО в первичной культуре ПБ начиналось уже на первые сутки. Через 72 ч монослой был тотально поражен. Почти все клетки

деадгезировались (рис. 2б). На подложке оставались сильно трансформированные крупные клетки.

Аналогичная трансформация происходила с субкультурой 5-го и 16-го пассажей. Титр вируса представлен в таблице.

Клетки субкультуры почки козла (ПК) также отличались полиморфностью и крупными размерами (рис. 3а), ядра и ядрышки хорошо контрастировались. Цитопатическое действие ВОО на этой субкультуре отличалось от предыдущего варианта. В терминальной стадии взаимодействия монослой значительно был разрежен. Только часть клеток приняла сферическую форму. Остальные клетки отличались высокой гранулярностью, деградацией цитоплазмы и ядер (рис. 3б). После промораживания титр вируса был высоким (см. таблицу).

Первичные и субкультуры тестикул барана (ТБ) отличались от почечных преобладанием веретенообразных клеток (рис. 4а). Также они обладали повышенной гранулярностью и наличием внеклеточного матрикса (соединительных белков). Цитопатическое действие

Таблица
Динамика накопления вируса оспы овец и вируса оспы коз в первичных и субкультивируемых клетках

Вид субкультуры или линии клеток	Титр вируса, $\lg \text{TCID}_{50}/\text{см}^2$			
	ВОО		ВОК	
	1 пассаж	5 пассаж	1 пассаж	5 пассаж
Почка барана	$5,5 \pm 0,25$	$5,5 \pm 0,25$	$5,0 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,25$
Тестикулы барана	$5,0 \pm 0,25$	$5,5 \pm 0,25$	$5,5 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,25$
Почка козленка	$4,5 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,25$	$5,0 \pm 0,25$	$6,5 \pm 0,25$
Тестикулы козленка	$5,0 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,25$	$5,0 \pm 0,25$	$5,0 \pm 0,25$
ЯДК-04	$5,0 \pm 0,25$	$5,5 \pm 0,18$	$5,5 \pm 0,25$	$6,0 \pm 0,18$

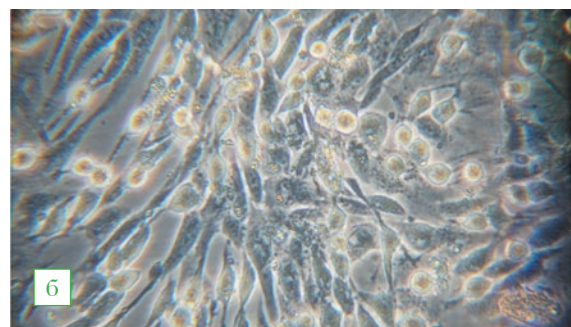
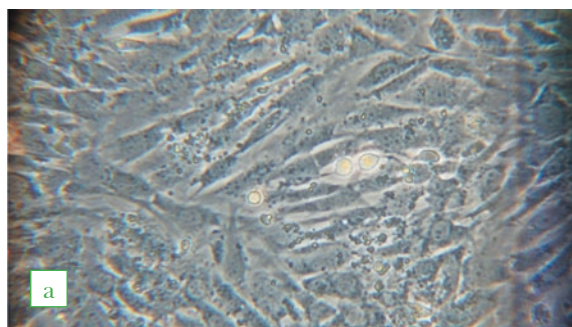


Рис. 4. Монослой культуры клеток ТБ (а) и проявление ЦПД вируса оспы овец (б)

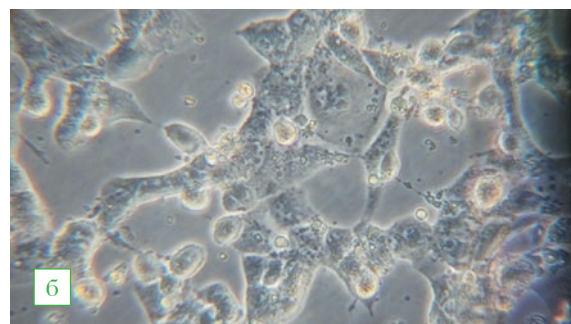
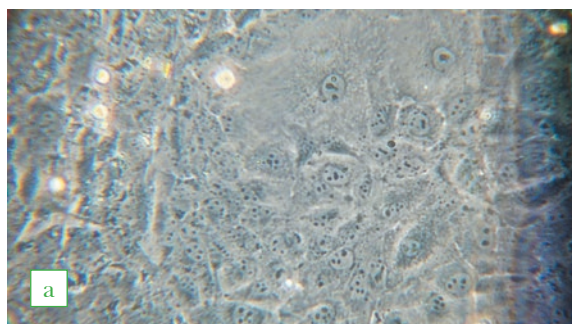


Рис. 5. Монослой субкультивируемых клеток ТК (а) и проявление ЦПД вируса оспы овец (б)

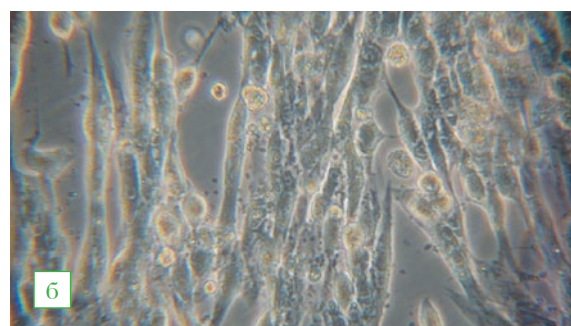
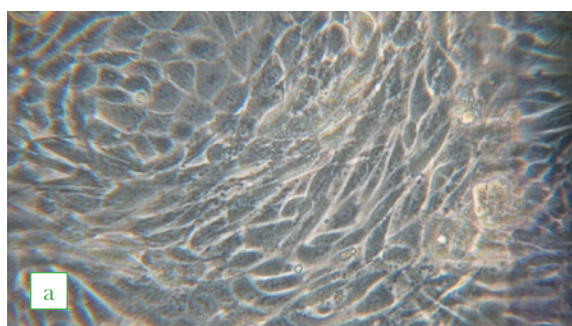


Рис. 6. Монослой субкультивируемых клеток ПБ (а) и проявление ЦПД вируса оспы коз (б)

ВОО на ТБ было схожим с воздействием на ЯДК-04. Клетки отслаивались, принимали сферическую форму, соединялись в дуплеты. В оставшихся адгезированных веретенообразных клетках повышалась гранулярность (рис. 4б).

Субкультуры тестикул козленка (ТК) 2–5 пассажей были схожи по морфологии с культурой, в которой преобладали эпителиоподобные клетки с четкими ядрами и обилием хорошо контрастированных ядрышек (рис. 5а). Этот факт свидетельствует о значительной адгезии клеток (связь с субстратом). После воздействия ВОО основная масса клеток деадгезировалась. Сферические клетки собирались в дуплеты, а оставшиеся на подложке клетки собирались в псевдосинцитии. Границы ядерных оболочек уже не контрастировались (рис. 5б).

Как было отмечено выше, в процессе реализации эксперимента проводилось субкультивирование первично трипсинизированных клеток почки барана (ПБ). Для заражения вирусом использовали культуру не старше 5-го пассажа. На этом уровне сохранялся относительный полиморфизм культуры (рис. 6а). Цитопатическое действие ВОК на субкультуру ПБ было

схожим с воздействием ВОО на ПБ (рис. 2б). Были зафиксированы менее интенсивные дегенеративные изменения, которые заключались в деадгезировании и образовании сферических агрегатов, а также в сохранении значительного количества клеток на подложке. Оставшиеся адгезированные клетки образовывали псевдосинцитий (рис. 6б).

Вирус оспы коз на субкультуру тестикул барана (ТБ) (рис. 7б) действовал аналогично ВОО (рис. 4б). В результате ЦПД сохраняется достаточное количество клеток на подложке, и в то же время значительные морфологические дегенеративные изменения внутри цитоплазмы (вакуолизация и грануляция) свидетельствуют о терминальной стадии ЦПД. Ядра и ядрышки при этом не контрастируются из-за уплотнения клеток.

Субкультура почки козленка (ПК) отличается от других культур крупными эпителиоподобными клетками с четкими ядрами и ядрышками (рис. 8а). Цитопатическое действие ВОК на ПК было аналогичным воздействию ВОО (рис. 3б), только менее интенсивным и с сохранением неразрушенных ядер (рис. 8б), при этом формировался псевдосинцитий. Нужно отметить,

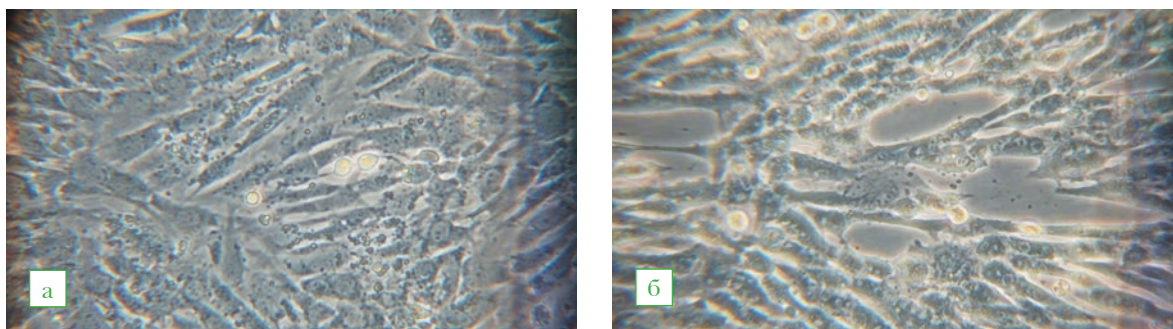


Рис. 7. Монослой субкультивируемых клеток ТБ (а) и проявление ЦПД вируса оспы коз (б)

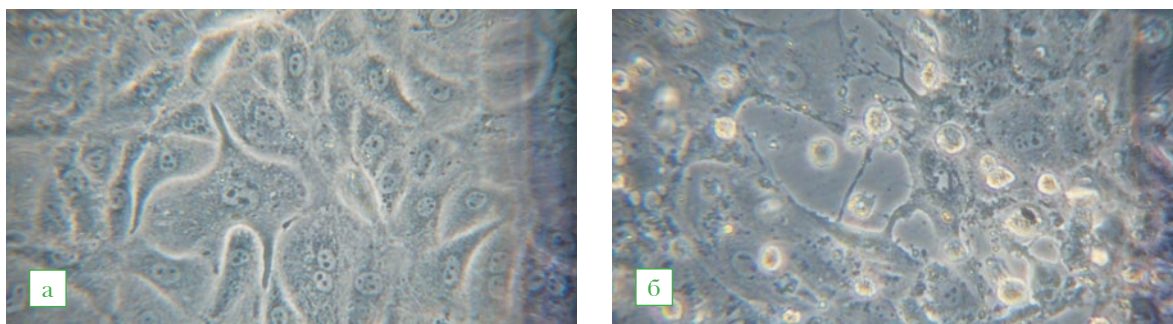


Рис. 8. Монослой субкультивируемых клеток ПК (а) и проявление ЦПД вируса оспы коз (б)

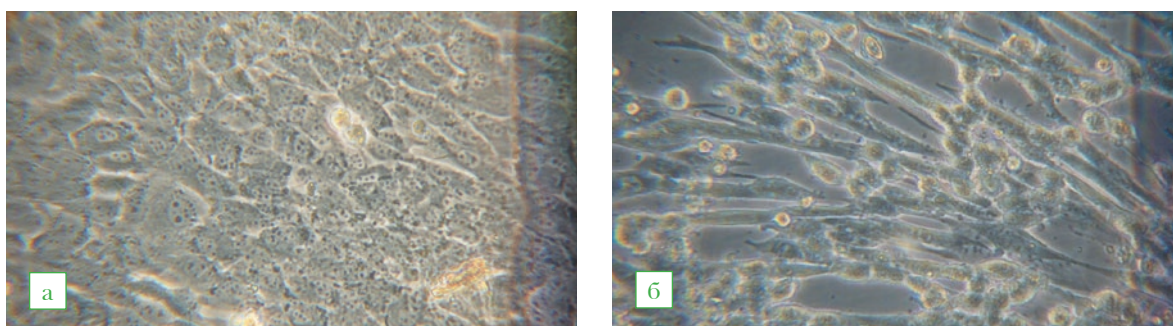


Рис. 9. Монослой субкультивируемых клеток ТК (а) и проявление ЦПД вируса оспы коз (б)

что ЦПД ВОК на ПК было не только более пролонгированным – более 80 ч, но и с самым высоким титром ($6,5 \pm 0,25 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$).

Воздействие ВОК на субкультуру тестикул козленка (ТК) 2–5 пассажей (рис. 9б) было схожим с действием вируса на культуру клеток ТБ (рис. 7б). По специфике ЦПД можно констатировать, что в первую очередь поражаются эпителиоподобные клетки первичной культуры и субкультур. Веретенообразные клетки собираются в тяжи, к концу терминальной стадии (72–96 ч) также деадгезируются и частично разрушаются.

Анализируя морфологические изменения клеточных культур в результате цитопатического действия ВОО и ВОК, были выявлены 2 типа поражения монослоя. Первый тип касается поражения субкультуры почки козленка обоими вирусами (рис. 3б, 8б). В этом случае на подложке остаются неразрушенные эпителиоподобные клетки, собранные в псевдосинцитий и деадгезированные сферические клетки разного размера. Этот тип взаимодействия отличается от контроля по морфологии, но по титру полученного вируса он соответствует производственным критериям. Второй тип поражения –

классический, который соответствует контрольным ориентирам при взаимодействии ВОО и ВОК с ЯДК-04. В результате этого взаимодействия множество клеток деадгезируются, частично агрегируются. Оставшиеся на подложке веретенообразные клетки теряют внутреннюю структуру и после промораживания разрушаются.

Была выявлена очень важная закономерность: при пассировании субкультур характерная специфика ЦПД вирусов сохраняется. Крайним показателем было стандартное поражение субкультуры почки барана на 5-м пассаже субкультивирования (рис. 2б).

По результатам биологической активности вирусных материалов, полученных в реакции микротитрования и представленных в таблице, можно утверждать, что вирусы оспы овец и оспы коз успешно репродуцируются в первичных и субкультивируемых клетках почек и тестикул ягненка и козленка. Эти данные согласуются с результатами других исследователей. Так, В. Н. Иванющенков и соавт. [5] применяли первичную культуру ткани почки овцы для получения вирусвакцины против оспы овец. В. И. Диев с соавт. [4] также успешно использовали первичную культуру ткани

почек овцы при работе с вакцинным штаммом вируса оспы овец. М. С. Кукушкина [6] репродуцировала вирусы оспы овец и оспы коз в первичной культуре ткани почки овцы с активностью 4,75–5,0 lg ТЦД₅₀/мл.

Субкультуры первичных клеток ткани почки и тестикул ягненка могут использоваться для получения производственных партий вирусов, но чаще всего применяются исследователями как промежуточный этап культивирования вирусов или же при первичном выделении вирусов из патологических материалов. В отдельных случаях вирусы хорошо восстанавливались в субкультуре клеток, а в некоторых их размножение постепенно уменьшалось. В. А. Сергеев [8] после анализа большого количества исследований по выращиванию вирусов животных в перевиваемых линиях и субкультурах клеток тканей приходит к выводу, что клетки в перевиваемых клеточных линиях более стабильны по своим свойствам, чем клетки субкультур, и предполагает, что это происходит благодаря более интенсивному метаболизму.

Результаты изучения репродукции ВОО и ВОК в субкультуре тканей почек и тестикул ягненка и козленка, представленные в настоящем исследовании, показали, что эти вирусы накапливаются в испытанных субкультурах в значительных количествах и не снижают уровень накопления в течение 5 пассажей (срок наблюдения), инфекционная активность вирусов за этот период увеличивается на 0,5–1,0 lg ТЦД₅₀/см³.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе проведено изучение возможности репродукции вирусов оспы овец и оспы коз в первичных и субкультивируемых клетках почек и тестикул ягненка и козленка. Производственные штаммы «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец и «ВНИИЗЖ 2003» вируса оспы коз успешно продуцировались как в первичной, так и в последующих пяти субкультивируемых пассажах клеток почек и тестикул ягненка и козленка. Полученные результаты по использованию субкультуры клеток тканей для выращивания указанных вирусов будут использованы в целях стабилизации производства вакцин против оспы овец и оспы коз, которые актуальны в настоящее время.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вирусные болезни животных / В. Н. Сюрин, А. Я. Самуйленко, В. В. Соловьев, Н. В. Фомина. – М.: ВНИИТБП, 1998. – С. 236–262.
2. Грачев Д. В. Иммунобиологические свойства вируса оспы коз, выделенного в Республике Таджикистан: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Покров, 2006. – 26 с.
3. Диев В. И., Захаров В. М., Рахманов А. М. Оспа овец и коз: мониторинг распространения и профилактика // Мониторинг распространения и предотвращения особо опасных болезней животных: сб. материалов 2-й Междунар. науч. конф. – Самарканд, 2004. – С. 63–65.
4. Диев В. И., Соколов Л. Н., Гусев А. А. Иммунобиологические свойства вакцинного штамма вируса оспы овец // Проблемы инфекц. патологии с.-х. животных: тез. докл. конф. – Владимир, 1997. – С. 81.
5. Ивановченко В. Н., Кекух В. Г., Кореба О. А. Реактогенные и иммуногенные свойства вирусвакцины против оспы овец из штамма НИСКИ // Ветеринария. – 1990. – № 7. – С. 28–30.
6. Кукушкина М. С. Иммунобиологическая характеристика вакцинных и вирулентных штаммов вирусов оспы овец и оспы коз: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Владимир, 2008. – 24 с.
7. Культивирование вируса оспы овец штамма «ВНИИЗЖ» на перевиваемых линиях клеток / Е. В. Курненькова, В. И. Диев, Б. Л. Манин,

В. П. Мельников // Распространение и меры борьбы особо опасных болезней животных и птиц: сб. материалов 5-й Междунар. науч. конф. – Самарканд, 2016. – С. 144–145.

8. Сергеев В. А. Размножение вирусов животных в культуре ткани. – М.: Колос, 1966. – 312 с.

9. Эпизоотическая ситуация по оспе овец и коз и ее профилактика в России / В. М. Захаров, В. И. Диев, А. М. Рахманов, Н. А. Яременко // Ветеринарные и медицинские аспекты зооантропонозов: тр. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 45-летию института. – Покров, 2003. – Ч. 2. – С. 345–354.

10. Animal Health Status and Disease Control Methods in Member Countries in 2000 / OIE. – Paris, 2001. – Parts 1–3.

11. Davies F. G., Otema C. Relationship of capripox viruses found in Kenya with two Middle Eastern strains and other orthopox viruses // Res. Vet. Sci. – 1981. – Vol. 31 (2). – P. 253–355; PMID: 7034101.

12. Kitching R. P., Taylor W. P. Clinical and antigenic relationship between isolates of sheep and goats pox viruses // Trop. Anim. Health. Prod. – 1985. – Vol. 17 (2). – P. 64–74; DOI: 10.1007/BF02360774.

13. Sheep pox and goat pox // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). – 2018. – Chap. 3.7.12. – URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.07.12_S_POX_G_POX.pdf.

14. World Animal Health in 2003 / OIE. – Paris, 2004. – Vol. 2.

REFERENCES

1. Viral animal diseases [Virusnye bolezni zhivotnykh]. V. N. Syurin, A. Ya. Samuylenko, V. V. Solovyev, N. V. Fomina. M.: VNIITBP, 1998 (in Russian).
2. Grachyov D. V. Immunobiological properties of goat poxvirus isolated in the Republic of Tajikistan [Immunobiologicheskie svoystva virusa ospy koz, vydelennogo v Respublike Tadzhikistan]: author's abstract, Theses of Candidate of Science (Veterinary Medicines). Pskov, 2006 (in Russian).
3. Diev V. I., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Sheep and goat pox: disease spread monitoring and prevention [Ospa ovec i koz: monitoring rasprostraneniya i profilaktika]. Monitoring rasprostraneniya i predotvrashcheniya osobo opasnykh bolezney zhivotnykh: Proceedings of the 2nd International Scientific Conference. Samarkand, 2004; 63–65 (in Russian).
4. Diev V. I., Sokolov L. N., Gusev A. A. Immunobiological properties of vaccine sheep poxvirus [Immunobiologicheskie svoystva vaktsinnogo shtamma virusa ospy ovec]. Problemy infekc. patologii s.-h. zhivotnykh: reports' theses. Vladimir, 1997; 81 (in Russian).
5. Ivanyushchenkov V. N., Kekukh V. G., Koreba O. A. Reactogenic and immunogenic properties of anti-sheep poxvirus vaccine based on NISKH strain [Reaktogennye i immunogennnye svoystva virusvaktsiny protiv ospy ovec iz shtamma NISKH]. Veterinariya. 1990; 7: 28–30 (in Russian).
6. Kukushkina M. S. Immunobiological characterization of vaccine and virulent strains of sheep and goat poxviruses [Immunobiologicheskaya harakteristika vaktsinnykh i virulentnykh shtammov virusov ospy ovec i ospy koz]: author's abstract, Theses of Candidate of Science (Biology). Vladimir, 2008 (in Russian).
7. Cultivation of VNIIZH strain of sheep poxvirus in continuous cell lines [Kul'tivirovaniye virusa ospy ovec shtamma «VNIIZH» na perevivayemykh liniyakh kletok]. Ye. V. Kurnenkova, V. I. Diev, B. L. Manin, V. P. Melnikov. Rasprostraneniye i mery bor'by osobo opasnykh bolezney zhivotnykh i ptic: Proceedings of the 5th International Scientific Conference. Samarkand, 2016; 144–145 (in Russian).
8. Segeyev V. A. Propagation of animal viruses in tissue culture [Razmnozheniye virusov zhivotnykh v kul'ture tkani]. M.: Kolos, 1966 (in Russian).
9. Sheep and goat pox epidemic situation and prevention in Russia [Epizooticheskaya situatsiya po ospe ovec i koz i ee profilaktika v Rossii]. V. M. Zakharov, V. I. Diev, A. M. Rakhmanov, N. A. Yaremenko. Veterinariya i medicinskie aspekty zooantropozoonozov: Proceeding of International Scientific and Practical Conference devoted to the 45th anniversary of the Institute. Pskov, 2003; 2: 345–354 (in Russian).
10. Animal Health Status and Disease Control Methods in Member Countries in 2000. OIE. Paris, 2001; Parts 1–3.
11. Davies F. G., Otema C. Relationship of capripox viruses found in Kenya with two Middle Eastern strains and other orthopox viruses. Res. Vet. Sci. 1981; 31 (2): 253–355; PMID: 7034101.
12. Kitching R. P., Taylor W. P. Clinical and antigenic relationship between isolates of sheep and goats pox viruses. Trop. Anim. Health. Prod. 1985; 17 (2): 64–74; DOI: 10.1007/BF02360774.
13. Sheep pox and goat pox. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). 2018. Chap. 3.7.12; URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.07.12_S_POX_G_POX.pdf.
14. World Animal Health in 2003. OIE. Paris, 2004; Vol. 2.

Поступила 20.03.19

Принята в печать 24.04.19

ЦИТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ТРАНСФОРМАЦИИ В КЛЕТКАХ ЯДК-04 ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ВИРУСОМ ЧУМЫ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Б. Л. Манин¹, Л. В. Малахова², А. Б. Сарбасов³, Н. В. Мороз⁴

¹ Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: manin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5263-1491

² Старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: burdeynaya@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-8011-5657

³ Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: sarbasov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1742-7989

⁴ Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: moroz@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-9672-8594

РЕЗЮМЕ

В работе представлены результаты экспериментальных исследований цитопатического действия вируса чумы мелких жвачных животных на перевиваемую культуру клеток яичников домашней козы (ЯДК-04). С помощью комбинированного применения фазово-контрастной и люминесцентной микроскопии показано взаимодействие вируса чумы мелких жвачных животных с клетками на разных стадиях его репродукции. Было выявлено, что на начальной стадии взаимодействия (20–24 ч) происходит округление и деадгезирование клеток и частичное разрушение монослоя. На вторые сутки репродукции основная часть культурального монослоя, пораженная вирусом, начинает разрушаться, внутри клеток происходит смещение ядер к периферии. В терминальной стадии (72 ч) происходит разрушение клеток монослоя и цитоплазматического матрикса, деформация и частичный лизис ядер и цитоплазмы, агрегация детрита. На конечной стадии репродукции (96 ч) вирус чумы мелких жвачных животных диффундирует в среду культивирования, флуоресценция в желтом спектре значительно уменьшается, но титр вируса достигает $6,89 \text{ Ig TCD}_{50}/\text{cm}^3$.

Ключевые слова: культура клеток ЯДК-04, вирус чумы мелких жвачных животных, цитопатическое действие, люминесцентная и фазово-контрастная микроскопия.

UDC 619:578.831.2:636.3:57.082.26

CYTOMORPHOLOGICAL TRANSFORMATIONS IN YADK-04 CELLS DURING INTERACTION WITH PESTE DE PETITS RUMINANTS VIRUS

B. L. Manin¹, L. V. Malakhova², A. B. Sarbasov³, N. V. Moroz⁴

¹ Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: manin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5263-1491

² Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: burdeynaya@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-8011-5657

³ Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: sarbasov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-1742-7989

⁴ Head of Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: moroz@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-9672-8594

SUMMARY

The paper presents experimental study results of the cytopathic effect of peste de petits ruminants virus on a goat gonad continuous cell line (YADK-04). The interaction of peste de petits ruminants virus with cells at different stages of its reproduction was shown using a combination of phase-contrast and luminescent microscopy. It was found that at the initial stage of interaction (20–24 hours) the cells became rounded and de-adhered, and the monolayer was partially loosened. On day 2 post reproduction the most part of the culture monolayer affected by the virus began to destruct, and the cell nuclei were displaced to periphery. At the terminal stage (72 hours) the destruction of monolayer cells and cytoplasmic matrix, deformation and partial lysis of the nuclei and cytoplasm, aggregation of detritus occurred. At the final stage of reproduction (96 hours) the peste de petits ruminants virus diffused into the culture medium, the fluorescence in the yellow spectrum decreased significantly, but the virus titer reached $6.89 \text{ Ig TCD}_{50}/\text{cm}^3$.

Key words: YADC-04 cell culture, peste de petits ruminants virus, cytopathic effect, luminescent and phase-contrast microscopy.

ВВЕДЕНИЕ

Важность изучения цитоморфологических изменений при взаимодействии вирусов с клеточными линиями *in vitro* имеет несколько аспектов, на первом месте стоят специфические морфологические трансформации, которые могут быть одним из ориентиров видовой принадлежности возбудителя. На основе специфики поражений клеток можно накапливать информацию о возможных поражениях отдельных тканей и органов у животных [1]. Немаловажно использовать специфику цитоморфологических изменений при отработке условий культивирования вирусов и проведении вирусологических исследований [5].

Вирус чумы мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) относится к семейству *Paramyxoviridae* и по культуральным свойствам сходен с вирусами оспы овец и оспы коз (репродукция вируса происходит на одних и тех же культурах и в одинаковых условиях), но отличается по цитопатическому действию на клетки [3, 6].

Целью работы было исследование взаимодействия вируса ЧМЖЖ с культурой клеток яичников домашней козы (ЯДК-04) с помощью люминесцентной и фазово-контрастной микроскопии и установление специфичности действия данного вируса на культуру клеток ЯДК-04.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусные материалы. В работе использовали производственный штамм «ВНИИЗЖ» вируса ЧМЖЖ с инфекционной активностью $5,89 \pm 0,18 \text{ lg TCD}_{50}/\text{cm}^3$ и производственный штамм «ВНИИЗЖ» вируса оспы овец с инфекционной активностью $6,25 \text{ lg TCD}_{50}/\text{cm}^3$.

Культура клеток. Культивирование вирусов, использованных в работе, проводили в перевиваемой культуре клеток ЯДК-04. Температура инкубации нормальной и зараженной клеточной культуры составляла $37,5-38,0^\circ\text{C}$.

Питательные среды и растворы. В качестве ростовой среды для культуры клеток ЯДК-04 использовали смесь питательных сред ПСП (питательная среда пристеночная) и 199 в соотношении 2:1 с добавлением обработанной лантаноидами 10% сыворотки крови КРС (рН среды 7,0–7,2).

В качестве поддерживающей среды для вируса использовали питательную среду ПСП с 2% инактивированной при 58°C в течение 30 мин сыворотки крови КРС (рН 7,3–7,5). Перед внесением вируса монослой культуры клеток ЯДК-04 отмывали солевым раствором Хенкса с рН 7,1–7,2. Коррекцию рН среды в процессе

культивирования вируса проводили 7,5%-м раствором бикарбоната натрия.

Для предотвращения бактериального пророста питательных сред и раствора Хенкса добавляли антибиотики в общепринятой дозировке (100 ед./мл канамицина или 40 ед./мл гентамицина).

Сосуды и аппараты. Лабораторное культивирование клеток проводили во флаконах фирмы Corning (США) с площадью роста 25 cm^2 .

Цитоморфологические изменения в культуре при взаимодействии с вирусом изучали в фазовом контрасте на микроскопе Olympus CKX-41 при 100- и 200-кратном увеличении и люминесцентном микроскопе МЛ-2Б при увеличении в 100 и 200 крат. При люминесцентной микроскопии нативные препараты, выращенные на покровных стеклах, окрашивали 0,01% раствором акридинового оранжевого [4].

Титр вируса рассчитывали по методу Кербера в модификации Ашмарина и выражали в $\text{lg TCD}_{50}/\text{cm}^3$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По данным литературы, в настоящее время для культивирования вируса ЧМЖЖ используют первичные и перевиваемые культуры клеток [1, 3, 6]. К недостаткам выращивания вируса на первичных культурах клеток является достаточно трудоемкий процесс получения клеточного монослоя и возможная предшествующая обсемененность материала, используемого для трипсинизации. Поэтому для получения большого объема вирусного сырья перспективным и удобным являются перевиваемые клеточные линии, преимущество которых является возможность создания банка клеток с характеристиками, необходимыми для производства вакцин.

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» разработана технология промышленного культивирования вируса ЧМЖЖ на перевиваемой культуре клеток ЯДК-04. Данная система культивирования позволяет получать вирусосодержащее сырье с высокой инфекционной активностью.

В рамках настоящего исследования определение количества вируса проводили в динамике с интервалом 24 ч методом титрования на культуре клеток ЯДК-04. Результаты представлены в таблице.

Данные таблицы показывают, что уровень накопления вируса ЧМЖЖ в процессе его выращивания повышается, достигая максимального значения к 96 ч культивирования ($5,89 \pm 0,18 \text{ lg TCD}_{50}/\text{cm}^3$), с последующим снижением инфекционного титра до $5,08 \pm 0,18 \text{ lg TCD}_{50}/\text{cm}^3$ к 120 ч.

Образец вирусного материала с оптимальной инфекционной активностью (96 ч культивирования) был взят для проведения дальнейшей работы и достижения поставленной задачи исследований – изучение цитоморфологических изменений в клетках ЯДК-04 под действием вируса ЧМЖЖ.

Единого системного подхода к изучению взаимодействия вирусов с клеточными культурами нет. Исследователи применяют для этого самые различные методы. Наиболее известными являются методы с использованием радиоактивных меток, гистохимические, серологические, электронная микроскопия и др. [1, 2, 7]. Было изучено действие вируса ЧМЖЖ на морфологию монослоя и отдельных клеток постоянной линии ЯДК-04 в процессе их взаимодействия с помощью фазово-контрастной и люминесцентной микроскопии.

Таблица 1
Динамика накопления вируса ЧМЖЖ на перевиваемой культуре клеток ЯДК-04
($n = 3$)

Время культивирования, ч	Титр вируса, $\text{lg TCD}_{50}/\text{cm}^3$
24	$3,08 \pm 0,14$
48	$4,25 \pm 0,00$
72	$5,33 \pm 0,18$
96	$5,89 \pm 0,18$
120	$5,08 \pm 0,18$

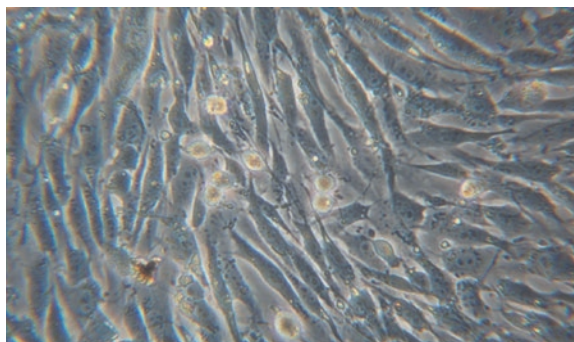


Рис. 1. Морфология клеток ЯДК-04 до контаминации вирусом ЧМЖЖ (увеличение $\times 400$)

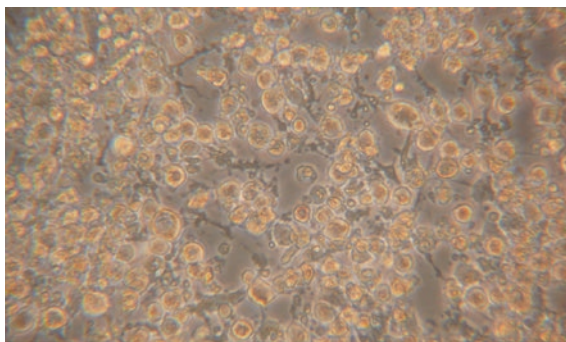


Рис. 2. Трансформация клеток ЯДК-04 через 48 ч после инфицирования вирусом ЧМЖЖ (увеличение $\times 400$)

Все вирусы являются внутриклеточными паразитами. После внедрения вируса в клетку происходит депротеинизация его оболочек, репликация нуклеиновых кислот (ДНК, РНК), синтез оболочек и сборка вирионов. Основные процессы репликации происходят в цитоплазме клеток, где вирусные частицы скапливаются чаще всего в диффузной конфигурации. В связи с тем, что вирус использует биоматериал клеток, происходят конформационные изменения всех органелл, цитоплазматического матрикса и ядра. Эти изменения внутри клеток в результате действия вируса ЧМЖЖ известны как оксифильные или эозинофильные включения, глыбки, гранулы и т. д. [2, 6]. При проведении исследования с помощью окрашивания нативных препаратов и люминесцентной микроскопии удалось выяснить некоторые цитоморфологические изменения при репродукции вируса ЧМЖЖ в клеточной линии ЯДК-04.

Нормальная (интактная) морфология культуры клеток ЯДК-04 представлена большим количеством веретенообразных и небольшим количеством клеток типа фибробластов (рис. 1, 5). Делящиеся клетки имеют сферическую и продолговатую форму, а ядра – эллиптическую, которая соответствует морфологии всех клеток. Изучаемая культура клеток в конце логарифмической фазы роста имела минимальное количество делящихся клеток и значение pH 6,8.

Действие вируса ЧМЖЖ в первые сутки культивирования (20–24 ч) сопровождалось появлением округлившихся деадгезированных клеток. Максимальное их количество наблюдали через 48 ч (рис. 2, 6). Часть клеток агрегировала в сферические симпласты. В этот период пораженные клетки и мини-симпласты имели аморфные границы. Внутри клеток происходила спирализация хроматина ядер (кариопикноз). После

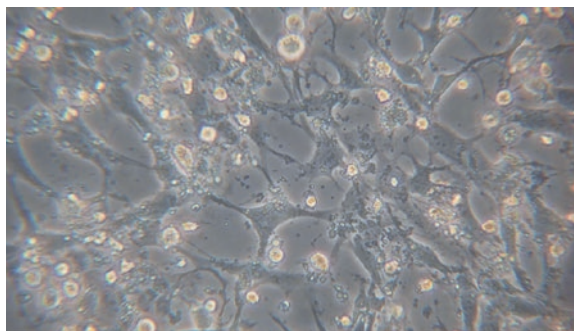


Рис. 3. Трансформация клеток ЯДК-04 через 72 ч после инфицирования вирусом ЧМЖЖ (увеличение $\times 400$)

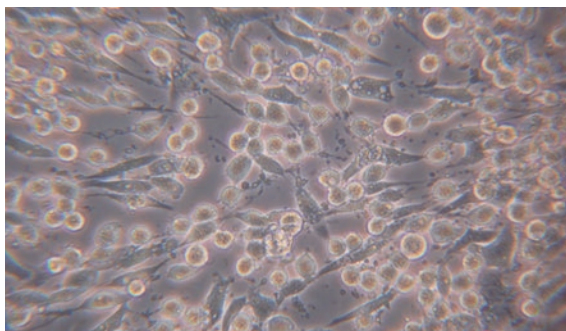


Рис. 4. Трансформация клеток ЯДК-04 через 72 ч после инфицирования вирусом оспы овец (увеличение $\times 400$)

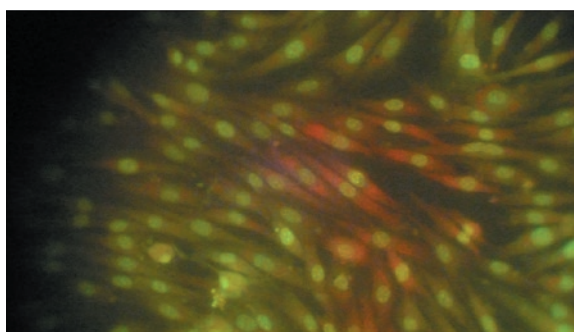


Рис. 5. Морфология клеток ЯДК-04 до контаминации вирусом ЧМЖЖ (увеличение $\times 200$), люминесценция

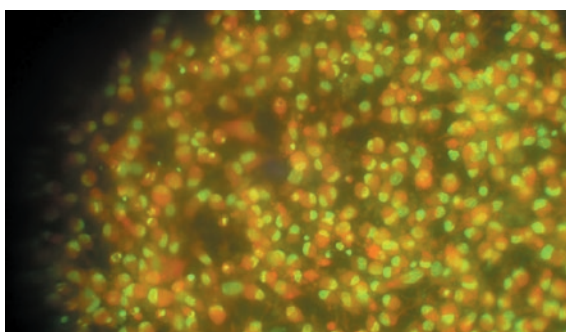


Рис. 6. Трансформация клеток ЯДК-04 через 48 ч после инфицирования вирусом ЧМЖЖ (увеличение $\times 200$), люминесценция

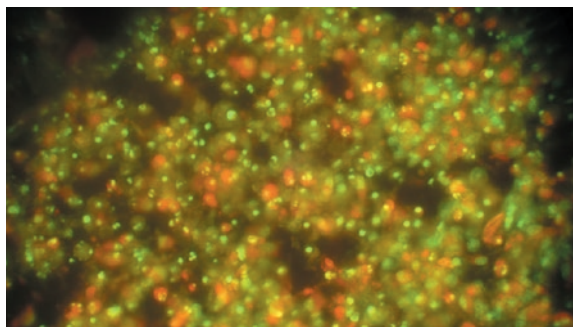


Рис. 7. Трансформация клеток ЯДК-04 через 72 ч после инфицирования вирусом ЧМЖЖ (увеличение $\times 200$), люминесценция

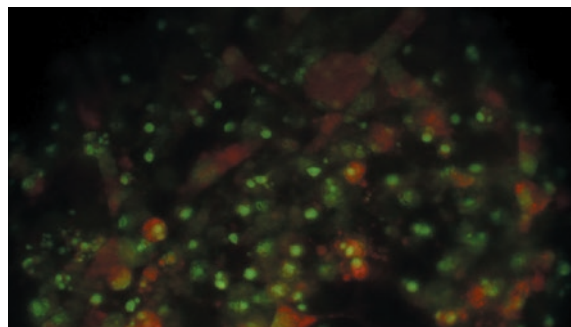


Рис. 8. Трансформация клеток ЯДК-04 через 72 ч после инфицирования вирусом ЧМЖЖ (увеличение $\times 400$), люминесценция

уплотнения хроматина (усиление люминесценции в зеленой области спектра) ядра деформировались, приобретали серповидную форму и перемещались на периферию к одному из краев клеток. К этому сроку цитоплазма клеток еще сохраняла целостность и люминесцировала в оранжевой области, что характерно для концентратов РНК и соответствовало локализации РНК-содержащего вируса ЧМЖЖ (рис. 6).

На следующей стадии (через 72 ч) наблюдали лизис основной части пораженных клеток. Цитоплазма клеток вместе с вирусом диффундировали в питательную среду (рис. 3, 7). Ядра клеток с суперспирализованной РНК флуоресцировали в зеленой области и подвергались лизису в последнюю очередь (рис. 9). До конца цикла культивирования вируса на субстрате наблюдали 2–5% неразрушенных, но пораженных клеток (рис. 8, 9).

В некоторых исключительных случаях, в результате взаимодействия вируса ЧМЖЖ с культурой клеток ЯДК-04, образовались довольно крупные симпласты из нескольких десятков клеток, но они были сформированы на фоне непораженных участков монослоя и не вызывали тотального цитопатического действия. В крупных симпластах также происходили кариопикноз и фрагментация ядер (рис. 10). В терминальной стадии цитопатического действия вируса ЧМЖЖ наблюдали более чем 90%-й лизис клеточных мембран и диффузию содержимого цитоплазмы в питательную среду. При этом только пикнотические ядра и небольшое количество неразрушенных клеток контрастировались акридиновым оранжевым (рис. 8, 9). РНК-содержащий компонент цитоплазм (вероятно, вирусный) уже не окрашивался.

Все стадии репродукции вируса ЧМЖЖ основываются на преобразованиях вирусной РНК, которые первоначально проходят в клеточном ядре, а затем в цитоплазме зараженных клеток [1]. Наблюдаемые изменения в клеточной культуре происходили из-за усиления синтеза вирусной РНК в первые 24–48 ч. На рисунке 6 видно, что цитоплазма небольшой части зараженных вирусом клеток флуоресцировала оранжевым цветом, что говорит об увеличении количества вирусной РНК в цитоплазме и о начале синтеза вирусного белка. По данным литературы, в последующие часы вирусная РНК транспортируется в цитоплазму клеток, где на ней происходит синтез белка и последующая сборка вирусных частиц. К 72 ч культивирования оранжевое свечение в цитоплазме исчезает, так как вирусная РНК сразу же преобразуется в рибонуклеопротеид и затем покрывается вирусной оболочкой на мембранах клетки, одновременно лизируя их [7]. Это особенно хорошо было выражено к 72 ч после заражения. Поэтому в этот период культивирования также наблюдали лизис клеток, что соответствовало предмаксимальному накоплению вируса в культуре, хотя часть вируса еще находилась в составе клеток. Образование симпластов, характерное для вируса ЧМЖЖ, редко встречается при инфицировании клеток ЯДК-04 вирусом оспы овец [3]. На рисунке 4 представлена фотография зараженной вирусом оспы овец культуры клеток ЯДК-04 к 72 ч инкубации, где образования симпластов и лизиса клеток не наблюдали. Это связано с отсутствием в структуре вируса оспы овец белка слияния, который и вызывает лизис клеток и образование агрегатов и симпластов при инфекции ЧМЖЖ [1].

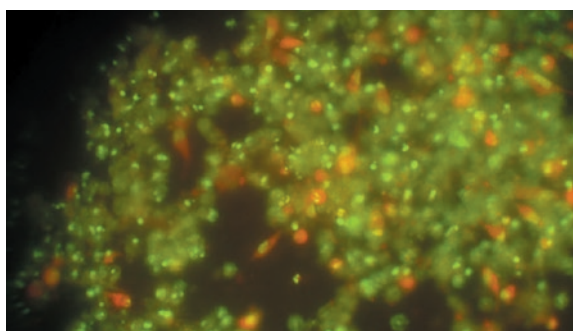


Рис. 9. Трансформация клеток ЯДК-04 через 96 ч после инфицирования вирусом ЧМЖЖ (увеличение $\times 200$), люминесценция

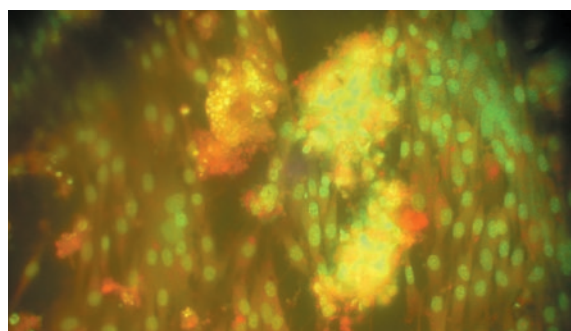


Рис. 10. Трансформация клеток ЯДК-04 через 72 ч после инфицирования вирусом ЧМЖЖ. Формирование симпластов (увеличение $\times 200$), люминесценция

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучение цитопатического действия вируса ЧМЖЖ на культуре клеток ЯДК-04 проводили в фазовом контрасте и методом люминесцентной микроскопии при окрашивании 0,01% раствором акридинового оранжевого.

Первоначально, исследовав динамику накопления вируса в культуре ЯДК-04 в течение 120 ч инкубации, было определено, что максимальное количество вируса образуется к 72–96 ч инкубации, а затем происходит снижение инфекционного титра.

Показано, что цитопатическое действие вируса ЧМЖЖ в различные сроки инкубации имеет признаки, характерные для вирусов этой группы, и отличается от подобного действия вируса оспы овец.

Применение люминесцентной и фазово-контрастной микроскопии позволило более детально показать морфологическую трансформацию в монослой и клетках ЯДК-04 в различные сроки инкубации вируса ЧМЖЖ. Эти изменения проявлялись последовательно. Сначала происходило округление клеток и их агрегация, потом деформация ядер внутри цитоплазмы и смещение их к периферии клеток, а затем – лизис основной части монослоя и выход содержимого цитоплазмы в среду. Оксифильные включения, наблюдаемые некоторыми исследователями в результате взаимодействия ЧМЖЖ с постоянными клеточными линиями, мы идентифицировали как ядра клеток, которые были смещены к периферии клеток и сильно уплотнены, в результате чего происходило их разрушение в вирусной суспензии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вирусные болезни животных / В. Н. Сюрин, А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьев, Н. В. Фомина. – М.: ВНИТИБП, 1998. – С. 236, 262.
2. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии) / под ред. Л. П. Дьяконова; Рос. акад. с.-х. наук. – 2-е изд., доп. – М.: Спутник+, 2009. – 652 с.
3. Капускин Е. В. Оптимизация условий культивирования вируса чумы мелких жвачных для получения диагностических и вакцинных препаратов: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Владимир, 2008. – 25 с.

4. Методы культивирования клеток (сборник научных трудов) / отв. ред. Г. П. Пинаев. – Л.: Наука, 1988. – 319 с.

5. Роменская Д. В., Манин Т. Б., Манин Б. Л. Изучение цитоморфологических трансформаций клеточного монослоя Vero-V в зависимости от времени репродукции метапневмовируса птиц // Клеточные культуры: информ. бюл. – СПб., 2012. – Вып. 28. – С. 50–55.

6. Степанов А. В., Вишняков И. Ф., Стрижаков А. А. Персистенция вируса чумы мелких жвачных (ЧМЖ) в перевиваемых культурах клеток // Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными, экзотическими зооантропонозными болезнями животных: сб. материалов Междунар. науч.-практ. конф. – Покров, 2000. – С. 206–209.

7. Apoptosis induced by peste de petits ruminants virus in goat peripheral blood mononuclear cells / B. Mondal, B. P. Sreenivasa, P. Dhar [et al.] // Virus Res. – 2001. – Vol. 73 (2). – P. 113–119; DOI: 10.1016/S0168-1702(00)00214-8.

REFERENCES

1. Viral animal diseases [Virusnye bolezni zhivotnyh]. V. N. Syurin, A. Ya. Samuilenko, B. V. Solovyov, N. V. Fomina. M.: VNITIBP, 1998 (in Russian).
2. Animal cell in culture (methods and implementation in biotechnology) [Zhivotnaya kletka v kul'ture (metody i primeneniye v biotekhnologii)]. Ed. by L. P. Dyakonova; Russian Academy of Agricultural Sciences. 2nd ed., enlarged. M.: Sputnik+, 2009 (in Russian).
3. Kapuskin Ye. V. Optimization of conditions of peste de petits ruminants virus cultivation for preparation of diagnostic kits and vaccines [Optimizatsiya usloviy kul'tivirovaniya virusa chumy melkih zhvachnyh dlya polucheniya diagnosticheskikh i vaktsinnykh preparatov]: author's abstract. ... Candidate of Science (Veterinary Medicine). Vladimir, 2008 (in Russian).
4. Cell cultivation methods (science proceedings) [Metody kul'tivirovaniya kletok (sbornik nauchnykh trudov)]. Ed.-in-chief. G. P. Pinayev. L.: Nauka, 1988 (in Russian).
5. Romenskaya D. V., Manin T. B., Manin B. L. Study of cytomorphological transformations of Vero-V cell monolayer depending on the time of avian metapneumovirus reproduction [Izucheniye citomorfologicheskikh transformatsij kletochnogo monosloya Vero-V v zavisimosti ot vremeni reprodukcii metapnevмовируса ptic]. *Kletochnye kul'tury: inform. byul.* SPb., 2012; 28: 50–55 (in Russian).
6. Stepanov A. V., Vishnyakov I. F., Strizhakov A. A. Persistence of peste de petits ruminants (PPR) virus in continuous cell lines [Persistenciya virusa chumy melkih zhvachnyh (CHMZH) v perevivaemykh kul'turakh kletok]. *Diagnostika, profilaktika i mery bor'by s osobo opasnymi, ekzoticheskimi zooantropoznymi boleznyami zhivotnyh: International Scientific and Practical Conference proceedings.* Pokrov, 2000; 206–209 (in Russian).
7. Apoptosis induced by peste de petits ruminants virus in goat peripheral blood mononuclear cells. B. Mondal, B. P. Sreenivasa, P. Dhar [et al.]. *Virus Res.* 2001; 73 (2): 113–119; DOI: 10.1016/S0168-1702(00)00214-8.

Поступила 11.12.18

Принята в печать 18.04.19

ГЛОБАЛЬНАЯ ЭПИЗООТОЛОГИЯ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ.

3. ИНДЕКС ОЧАГОВОСТИ

В. В. Макаров¹, Н. Я. Махамат²

¹ Доктор биологических наук, профессор, Российский университет дружбы народов (РУДН), г. Москва, Россия, e-mail: vvm-39@mail.ru; ORCID ID 0000-0002-8464-6380

² Аспирант, Российский университет дружбы народов (РУДН), г. Москва, Россия, e-mail: mhtnquerabe@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Индекс очаговости – показатель, количественно характеризующий активность эпизоотического очага, основанный на контагиозности как имманентном свойстве заразной болезни. Проведен подробный статистический анализ количества экспонированных животных в очагах сибирской язвы в мире по суммированным данным ProMED и WAHIS за 2007–2017 гг. Учтены 195 очагов/выпых сибирской язвы в мире с $n = 12\,423$ голов животных, в среднем 64 головы на очаг, и широчайшей амплитудой лимитов от min 1 до max 2600. Наибольшая частота (р) инцидентности сибирской язвы (от 27 до 7) приходится на очаги, где экспонированным оказывается минимальное количество животных (от 1 до 7). Значения наиболее приближенных к реальности индексов очаговости сибирской язвы, рассчитанные с использованием статистически достоверной выборки усредненных вариантов (количества очагов, экспонированных животных, смертности), для животных основных видов в пересчете на проценты зараженных в одной вспышке составляют в среднем 11% (от 0,6 до 19) для крупного рогатого скота, 4% (от 1 до 20) для мелкого рогатого скота, 7% (от 6 до 33) для лошадей.

Ключевые слова: сибирская язва, эпизоотология, индекс очаговости.

UDC 619:616.98:579.852.11

GLOBAL ANTHRAX EPIZOOTOLOGY.

3. THE INDEX OF NIDALITY

V. V. Makarov¹, N. Ya. Makhamat²

¹ Doctor of Sciences (Biology), Professor, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), Moscow, Russia, e-mail: vvm-39@mail.ru; ORCID ID 0000-0002-8464-6380

² Post-Graduate Student, Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), Moscow, Russia, e-mail: mhtnquerabe@mail.ru

SUMMARY

The index of nidality is the value quantitatively characterizing the activity of the animal infection nidus and grounded on the contagiousness, which is an immanent property of a contagious disease. A detailed statistical analysis of the number of animals being exposed in anthrax nidi globally, based on ProMED and WAHIS summarized data for 2007–2017, is given in the paper. 195 anthrax nidi/outbreaks with $n = 12,423$ animals (64 animal per outbreak in average) and the largest range of limits from min 1 to max 2600 were taken into consideration. The highest incidence (p) of anthrax (from 27 to 7) accounts for outbreaks, where minimum animals (from 1 to 7) were exposed. The indices of anthrax nidality, which are closest to reality and calculated using statistically reliable sample of average variants (number of outbreaks, exposed animals, mortality) for basic animal species, taken as a percentage of infected animals per one outbreak in average are 11% (from 0,6 to 19) for cattle; 4% (from 1 to 20) for small ruminants; 7% (from 6 to 33) for horses.

Key words: anthrax, epizootology, index of nidality.

В предыдущей публикации [1] рассмотрены наиболее крупные эпизоотические инциденты сибирской язвы в разных климатогеографических условиях трех континентов, которые определяются как гиперспорадии. Дана их подробная интерпретация с уточнением причин, лежащих в основе гиперспорадичности, которые могут служить стереотипами. В настоящей работе речь идет об очаговости как одном из важнейших эпизоотологических признаков этого заболевания.

Индекс очаговости – показатель, количественно характеризующий активность эпизоотического очага и заболеваемость в нем, основанный на контагиозности как имманентном свойстве заразной болезни. Выражается долей заболевших среди всех экспонированных, т. е. находящихся в эпизоотическом очаге:

$$X = \frac{\text{(количество заболевших)}}{\text{(количество экспонированных)}}.$$

Это характеристика статического типа, стереотипная для рациональных категорий инфекций, – контагиозных (высоко-, низкоконтациозных), неконтагиозных (трансмиссивных), тупиковых, относительно специфична для отдельных нозологических форм и прямо коррелирует с индексом контагиозности (или контактным числом), т. е. заразностью болезни, основанной на скорости диффузии возбудителя в пределах восприимчивой популяции. В частности, очень высокий индекс очаговости достигает единицы (т. е. 100% заражения экспонированных) при острых эпизоотических инфекциях, особенно высококонтациозных типа ящура, классической чумы свиней и ньюкаслской болезни. Для низкоконтациозных африканской чумы свиней, хронических туберкулеза, бруцеллеза, лейкоза он значительно меньше. При тупиковых инфекциях спорадического типа, таких как бешенство негостальных животных, сибирская язва и другие сапронозы, индексы очаговости могут иметь предельно низкие значения.

Эпизоотическим очагом принято обозначать место расположения источника заразной болезни, из которого в данных условиях возможна его передача и дальнейшее распространение среди восприимчивых животных. Очагом может считаться любая совокупность животных, находящихся в непосредственной пространственной близости (прямом и непрямым контакте) с больными, павшими животными или контаминированными ими объектами, т. е. экспонированных к вспышке заболевания. Типо- и топологичная масштабность очага, или количество и структура восприимчивых животных и территориальные размеры, могут *a priori* значительно варьировать в очень широких пределах.

Индекс очаговости инфекционных заболеваний подтверждает их важнейшие эпизоотологические признаки: спорадичность или эпизоотичность; количественный порядок пространственного распространения в эпизоотическом очаге или тупиковый характер; контагиозность и передачу от больных животных – источника прямого заражения – восприимчивым по эпизоотическим цепям или отсутствие контагиозности, т. е. неспособность больных быть источником инфекции.

Общеизвестно, что эпизоотический процесс сибирской язвы как тупиковой инфекции без прямой цепной передачи проявляется в форме спорадии [1, 2, 3].

Был проведен подробный статистический анализ количества экспонированных животных в очагах сибирской язвы в мире по суммированным данным ProMED за 2007–2017 гг. [4]. Типологические масштабы вариационного ряда очагов сибирской язвы – количество экспонированных животных в очагах и частота встречаемости вариант – приведены на рисунке.

В данном анализе учтены 195 очагов/вспышек сибирской язвы в мире с $n=12\,423$ голов животных, в среднем 64 головы на очаг, и широчайшей амплитудой лимитов от $\min 1$ до $\max 2600$. Наибольшая частота (р) инцидентности сибирской язвы (от 27 до 7) приходится на очаги, где экспонированным оказывается минимальное количество животных (от 1 до 7).

Для подробного количественного анализа очаговости сибирской язвы животных далее использованы данные WAHIS как наиболее достоверного источника статистических эпизоотологических сведений [5].

Имеющиеся в системе статистические данные по странам Африки и Азии очевидно необъективны

Рис. Типологические масштабы очагов сибирской язвы – количество экспонированных животных в очагах по суммированным данным ProMED за 2007–2017 гг. [4]

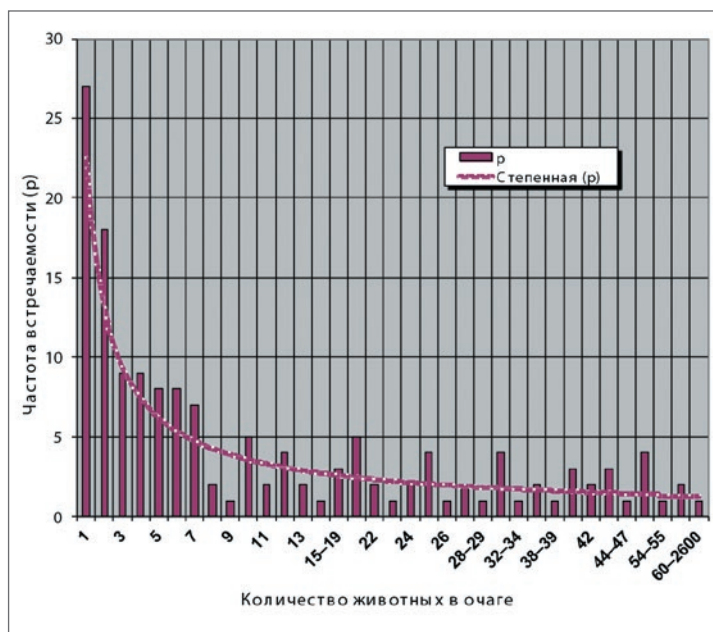


Таблица 1
Суммированные регистрационные данные WAHIS по сибирской язве животных в некоторых странах Африки [5]

Страна	Год	Количество вспышек (очагов)	Количество экспонированных животных (в очагах)	Пало
Замбия	2017	6	КРС – 46 500	27
Лесото	2011–2015	7	Всего – 60 441, в т. ч. КРС – 8300, МРС – 50 000	65 55 2
Танзания	2017	2	Всего – 49 500, в т. ч. КРС – 23 000, МРС – 26 500	179 10 29
Уганда	2011	3	Дикие животные – 33 116	144

Таблица 2

Суммированные регистрационные данные WAHIS по странам, видам животных, количеству и составу вспышек, смертности с вычислением частных значений индекса очаговости [5]

Страна	Вид животных	Количество вспышек (очагов)	Количество экспонированных животных (в очагах)	Среднее количество экспонированных животных на вспышку	Пало	Индекс очаговости
Англия	КРС	1	352	352	2	0,006
Германия	КРС	4	264	66	16	0,06
Италия	КРС	35	1209	35*	44	0,04
	МРС	38	2694	71	26	0,01
	Лошади	26	119	4,6	7	0,06
Польша	Лошади	1	7	7	1	0,14
Румыния	КРС	5	37	7,4	7	0,19
	МРС	4	306	77	13	0,04
	Лошади	2	4	2	0	–
	Свиньи	1	35	35	0	–
Сербия	КРС	3	22	7,3	2	0,09
Словакия	КРС	5	537	107	13	0,02
Словения	КРС	2	65	32,5	11	0,17
	МРС	1	5	5	1	0,2
	Лошади	1	1	1	1	1,0
Украина	КРС	2	5	2,5	2	0,4
	МРС	1	?	–	2	–
	Свиньи	1	?	–	1	–
Финляндия	КРС	1	36	36	1	0,03
Франция	КРС	11	2600	236	44	0,02
	Лошади	1	2	2	0	–
Хорватия	КРС	5	73	15	6	0,08
	Лошади	1	4	4	1	0,25
	Свиньи	1	6	4	0	–
Швейцария	КРС	1	80	80	1	0,01
Швеция	КРС	13	703	54	47	0,07
	МРС	1	11	11	1	0,09
	Лошади	1	3	3	1	0,33
	Лоси	1	?	–	3	–
Азербайджан	КРС	2	55	23	3	0,05
	МРС	1	645	645	1	0,002
Армения	КРС	1	1	1	1	1,0
Казахстан	КРС	9	8859	984	11	0,001
	МРС	6	27 025	4504	0	–
	Лошади	8	2698	337	2	0,0007
	Свиньи	1	181	181	0	–
	Верблюды	1	?	–	0	–
Израиль	КРС	3	641	214	10	0,02

*В значениях больше 10 дроби округлены.

и неприемлемы, т. к. численность экспонированных животных, как домашних, так и диких, чрезвычайно высока и достигает многих десятков тысяч. С учетом популяционных параметров восприимчивых животных (обеспечение кормовых потребностей) это также косвенно указывает на значительный территориальный размер эпизоотического очага, что маловероятно для сибирской язвы как природно-очаговой инфекции с локальным почвенным резервуаром и источником. Регистрируемая смертность на экстремально высоком количественном и пространственном фоне исходно не может отражать истинное состояние контактов восприимчивых животных с источниками инфекции и контагиозность заболевания как его эпизоотологического признака. Примеры приведены в таблице 1.

В таблице 2 суммированы подпадающие относительно упорядочению данные еженедельной регистрации вспышек сибирской язвы животных за 2007–2017 гг. по странам Европы и отдельным прилегающим неблагоприятным странам с учетом формата, принятого WAHIS.

Суммарные регистрационные данные характеризуют чрезвычайное разнообразие сведений о численности экспонированных животных (в очагах) с лимитами от единицы до нескольких тысяч (рис., табл. 1 и 2). Это обусловливается, прежде всего, географией и характером ведения животноводства. В экономически развитых странах Европы с умеренным климатом и небольшими, компактными группировками восприимчивых домашних животных (от единицы до 10 экспонированных) заражению могут быть подвергнуты одновременно несколько особей, а индексы очаговости составлять до 1,0. В южных регионах Европы и сопредельных неблагоприятных странах, где практикуется преимущественно свободное пастбищное содержание животных, количество экспонированных может достигать десятков тысяч, при этом индексы очаговости будут измеряться тысячными долями.

Поэтому для относительно реалистичной систематизации представления об индексе очаговости сибирской язвы из суммарного материала, приведенного в таблице 2, сделана выборка с исключением крайних единичных и многотысячных значений масштабов очагов (выделенные зеленым цветом ячейки), которые приняты как «выскакивающие» величины. Усредненные значения индекса контагиозности сибирской язвы важнейших домашних животных вместе с исходными данными представлены в таблице 3.

Таким образом, значения наиболее приближенных к реальности индексов очаговости сибирской язвы, рассчитанные с использованием статистически достоверной выборки усредненных вариантов (количества очагов, экспонированных животных, смертности), для животных основных видов в пересчете на проценты зараженных в одной вспышке составляют в среднем 11% (от 0,6 до 19) для крупного рогатого скота, 4% (от 1 до 20) – для мелкого рогатого скота, 7% (от 6 до 33) – для лошадей. Это в полной мере соответствует важнейшим эпизоотологическим признакам заболевания, стереотипным для природно-очаговых нетрансмиссивных неконтагиозных сапрозоонозов с почвенным резервуаром и источником инфекции – облигатной летальности, спорадичности, тупиковому характеру с отсутствием контагиозности, горизонтального рас-

Таблица 3

Данные WAHIS с вычислением усредненных значений индекса очаговости по видам животных

Вид животных	Количество вспышек (очагов)	Количество экспонированных животных (в очагах)	Среднее количество экспонированных животных на вспышку	Пало	Средние индексы очаговости	Лимиты	
						min	max
КРС	93	1910	21	201	0,11	0,006	0,19
МРС	46	3016	131	53	0,04	0,01	0,20
Лошади	32	139	4	10	0,07	0,06	0,33

пространения в эпизоотическом очаге и прямого заражения по эпизоотическим цепям восприимчивых от больного животного, т. е. неспособности последнего быть источником инфекции.

Наибольшая частота инцидентности в очагах с минимальным количеством животных, возможно, связана с банальными «техническими» аспектами регистрации и наибольшей очевидностью гибели скота именно в мелких группировках. С другой стороны, это может прямо указывать на пространственную ограниченность, «точечность» очагов первичного заражения и стартов квантового возникновения спонтанных случаев заболевания.

Публикация подготовлена при поддержке Программы РУДН «5-100».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гиперспорадичность инцидентов сибирской язвы / В. В. Макаров, М. Н. Ямтитина, А. А. Шабейкин [и др.] // Ветеринария. – 2019. – № 1. – С. 22–27; DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.1.22-27.

2. 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).

3. 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).

4. Anthrax // ProMED. – URL: <http://www.promedmail.org>.

5. World Animal Health Information System / OIE. – URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI.

REFERENCES

1. Hypersporadicity of anthrax incidents [Gipersporadichnost' incidentov sibirskoy yazyvy]. V. V. Makarov, M. N. Yamtitina, A. A. Shabaykin [et al.]. *Veterinariya*. 2019; 1: 22–27; DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.1.22-27 (in Russian).

2. 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).

3. Anthrax outbreaks: A warning for improved prevention, control and heightened awareness. S. Shadomy, A. El Idrissi, E. Raizman [et al.]. *Empres Watch*. 2016; URL: <http://www.fao.org/3/a-i6124e.pdf> (access date: 01.12.18).

4. Anthrax. ProMED. URL: <http://www.promedmail.org>.

5. World Animal Health Information System. OIE. URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI.

Поступила 11.03.19

Принята в печать 16.04.19

РЕТРОСПЕКТИВНАЯ ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ КОНТРОЛЯ ЗА ПОЛНОТОЙ И КАЧЕСТВОМ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ВETERИНАРНЫМИ СЛУЖБАМИ СУБЪЕКТОВ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПЕРЕДАННЫХ ИМ ПОЛНОМОЧИЙ

М. А. Шибяев¹, А. С. Оганесян², А. В. Бельчихина³, К. Н. Груздев⁴, А. К. Караулов⁵

¹ Заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shibaev@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-9382-0109

² Заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: oganesyan@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-0061-5799

³ Младший научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: belchihina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-1442-2469

⁴ Главный эксперт, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: gruzdev@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3159-1969

⁵ Руководитель ИАЦ, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: karaulov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5731-5762

РЕЗЮМЕ

Проведена ретроспективная оценка результатов контроля за полнотой и качеством осуществления органами государственной власти субъектов Российской Федерации переданных им полномочий Российской Федерации в области ветеринарии. Показано, что в период с 2014 по 2016 г. ветеринарными службами субъектов страны было осуществлено 21 337 мероприятий по установлению и отмене ограничительных мероприятий/карантина по фактам возникновения болезней животных. При проведении исследования выявлено, что в довольно значительном числе случаев установления и отмены ограничительных мероприятий и карантина ветеринарными службами субъектов РФ допускаются нарушения законодательства РФ. На основании введенного в настоящее исследование критерия «показатель качества проводимых ветеринарной службой мероприятий при установлении/отмене ограничительных мероприятий (карантина) на территории субъекта РФ» сформированы оценочные уровни и определены уровни качества деятельности ветеринарных служб субъектов РФ, связанной с исполнением ими переданных полномочий РФ по установлению и отмене ограничительных мероприятий/карантина. После анализа результатов установили, что лишь в 37 из 74 анализируемых субъектов страны организация мероприятий по установлению ограничений/карантина проводится на приемлемом уровне, а для ветеринарных служб 59 субъектов страны (из 70 анализируемых) показан ненадлежащий уровень качества деятельности при отмене ограничений/карантина. Проведенный ретроспективный анализ свидетельствует о том, что ситуация с качеством осуществления органами государственной власти субъектов РФ переданных им полномочий Российской Федерации в области ветеринарии достаточно напряженная и вызывает опасения. В итоге проведенной работы возникло понимание, что целью проведения проверок должна являться не только оценка соответствия деятельности ветеринарной службы нормативно-правовым актам, но систематизация и анализ видов нарушений, а также разработка и организация корректирующих мер.

Ключевые слова: ветеринарная служба, контроль, переданные полномочия, ограничительные мероприятия, карантин.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных задач ветеринарии в Российской Федерации является реализация мероприятий по предупреждению и ликвидации болезней животных, в том числе заразных [6]. В большей степени залогом успеха и эффективности борьбы с инфекционными болезнями служит качество противоэпизоотических мероприятий, для оценки которого используются следующие критерии: полнота охвата, достаточность и своевременность их проведения, а также выполнение (соблюдение) методики проведения указанных мероприятий и качество применяемых средств [1, 8].

Понятие качества в противоэпизоотической деятельности ветеринарной службы может быть тесно связано с понятием стандартизации противоэпизоотических средств, мероприятий и может быть оценено при сопоставлении с эталоном или нормативным требованием (документом).

Посредством оценки качества комплекса противоэпизоотических мероприятий, проводимых ветслужбой

при возникновении очагов болезней животных с целью предупреждения распространения эпидемического варианта возбудителя, может быть в определенной степени оценено качество деятельности ветеринарной службы по данному направлению. О качестве противоэпизоотических мероприятий, в свою очередь, можно судить по степени соответствия проводимых при той или иной болезни мероприятий с нормами, требованиями и правилами, установленными соответствующими нормативно-правовыми актами (ветеринарные правила по борьбе с болезнями, инструкции по дезинфекции, инструкции по диагностике болезней и т. д.).

Порядок проведения и реализация механизма данной оценки регламентированы Приказом Минсельхоза России № 100 от 27.03.2014 «Об утверждении порядка осуществления контроля за полнотой и качеством осуществления органами государственной власти субъектов Российской Федерации переданных им полномочий Российской Федерации в области ветеринарии» [5].

RETROSPECTIVE ASSESSMENT OF CONTROL RESULTS WITH REGARD TO COMPLETENESS AND QUALITY OF IMPLEMENTATION BY VETERINARY SERVICES OF THE SUBJECTS OF THE RUSSIAN FEDERATION OF POWERS TRANSFERRED TO THEM

M. A. Shibayev¹, A. S. Oganessian², A. V. Belchikhina³, K. N. Gruzdev⁴, A. K. Karaulov⁵

¹ Head of Sector, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shibaev@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-9382-0109

² Head of Sector, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: oganessian@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-0061-5799

³ Junior Researcher, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: belchikhina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-1442-2469

⁴ Chief Expert, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: gruzdev@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3159-1969

⁵ Head of Information and Analysis Center, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: karaulov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5731-5762

SUMMARY

A retrospective assessment of control results with regard to completeness and quality of the implementation by state authorities of the Subjects of the Russian Federation of the powers of the Russian Federation in the field of veterinary medicine transferred to them has been carried out. It was shown that in the period from 2014 to 2016 the veterinary services of the RF subjects implemented 21,337 measures on establishment and lifting of restrictive measures/quarantine based on the occurrence of animal diseases. The study revealed that in quite a significant number of cases on establishment and lifting of restrictive measures and quarantine the veterinary services of the subjects of the Russian Federation violated the legislation of the Russian Federation. Based on the criterion "quality indicator of measures implemented by the veterinary service during the establishment/lifting of restrictive measures (quarantine) in the territory of the subject of the Russian Federation" introduced in this study, the estimated levels were determined and the quality levels of the performance of veterinary services of the subjects of the Russian Federation with regard to implementation of powers transferred to them on establishment and lifting of restrictive measures/quarantine were determined. After summarizing the results it was found that only in 37 out of 74 analyzed RF Subjects the implementation of restriction/quarantine measures was carried out at an acceptable level, and the veterinary services in 59 subjects of the country (out of 70 analyzed) showed an incompliant level of performance quality during lifting restrictions/quarantine. The retrospective analysis shows that the situation regarding quality of the implementation by government authorities of the Subjects of the Russian Federation of the powers of the Russian Federation transferred to them in the field of veterinary medicine is quite tense and causes concern. The conducted research led to understanding that the aim of the inspections should not only be assessment of compliance of the veterinary service's activities with the regulatory acts, but systematization and analysis of violation types, as well as development and implementation of corrective measures.

Key words: veterinary service, control, transferred powers, restrictive measures, quarantine.

Согласно данному приказу, контроль осуществляется Федеральной службой по ветеринарному и фитосани-тарному надзору и ее территориальными органами в форме документарных и выездных, плановых и вне-плановых проверок. В ходе проверок проводится оцен-ка степени соответствия действий, предпринятых вете-ринарной службой субъекта в ходе установления или отмены ограничительных мероприятий (карантина), с действиями, «регламентированными» ветеринарным законодательством РФ, или, иными словами, сравнения фактического положения дел с предписанным.

В связи с этим целью настоящего исследования явился количественный анализ результатов проведен-ных в 2014–2016 гг. проверок в субъектах РФ и оценка деятельности региональных ветеринарных служб по степени соответствия национальному законодатель-ству проведенных мероприятий по установлению и отмене ограничительных мероприятий/карантина при возникновении болезней животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При проведении исследования была разработана форма для сбора первичных данных в отдельных ре-гионах и страны в целом, организован единовремен-ный и одномоментный сбор информации по фактам установления и отмены ветеринарными службами субъектов РФ ограничительных/карантинных меро-приятий за период с 1.01.2014 по 31.12.2016. Первич-ные данные, полученные от сотрудников территори-альных управлений Россельхознадзора, были внесены в систему оперативной отчетности «Ассоль.Экспресс» (<http://assol-express.vetr.ru>) и проанализированы. В анализе использовали сведения только по тем ме-роприятиям, которые были охвачены проверками со стороны сотрудников территориальных управлений Россельхознадзора за указанный выше период.

В исследовании использовали общепринятые ме-тоды анализа данных: обобщение и формализация информации, метод сравнительного анализа, методы описательной статистики и метод корреляционного



Рис. 1. Установление и отмена ограничительных мероприятий ветеринарными службами субъектов РФ в 2014-2016 гг.

анализа. Обработка числовых данных проводилась с использованием программного обеспечения анализа данных Statistica 10 (StatSoft).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сбор и валидацию информации осуществляли согласно установленной форме по всем субъектам РФ ($n = 85$) за период с 1.01.2014 по 31.12.2016 (далее – отчетный период). При этом сбор сведений осуществлялся без учета «переходящих» случаев, что позволило избежать возможного смещения при дальнейших расчетах и повысило объективность анализа.

На основании полученных данных по каждому из субъектов страны сформировали следующие группы:

- всего **УСТАНОВЛЕНО** карантинных и/или ограничительных мероприятий ветеринарной службой за отчетный период;
- из них **УСТАНОВЛЕНО без нарушений** карантинных и/или ограничительных мероприятий ветеринарной службой за отчетный период;
- всего **ОТМЕНЕНО** карантинных и/или ограничительных мероприятий ветеринарной службой за отчетный период;
- из них **ОТМЕНЕНО без нарушений** карантинных и/или ограничительных мероприятий ветеринарной службой за отчетный период.

В результате анализа первичных данных выявлено, что в период с 2014 по 2016 г. ветеринарными службами субъектов страны было осуществлено 12 216 мероприятий по установлению ограничительных мероприятий/карантина по фактам возникновения болезней животных и 9121 мероприятие по отмене ограничительных мероприятий/карантина (рис. 1).

Как видно из представленных на рисунке 1 данных, нарушения законодательства РФ при организации мероприятий были допущены ветеринарными службами регионов РФ в довольно значительном числе случаев: в 22,2% случаев при установлении ограничительных мероприятий и карантина, в 31% – при их отмене. Иными словами, в среднем по РФ практически в каждом третьем случае деятельность ветеринарной службы, связанная с отменой ограничительных мероприятий/карантина, осуществляется с какими-либо нарушениями. Вместе с тем подобная картина характерна не для всех регионов страны, а лишь отражает среднее значение по стране.

Для получения точной картины по выявляемым нарушениям требований законодательства РФ при установлении/отмене ограничительных мероприятий и карантина провели оценку в регионах страны.

Стоит отметить, что в целях получения объективных и статистически достоверных результатов иссле-

Рис. 2. Соблюдение законодательства при проведении мероприятий по установке/отмене ограничений в субъектах РФ



дования в анализ были включены только те субъекты страны, в которых проверки были проведены в объеме, позволяющем с 95%-й достоверностью и предполагаемым уровнем совершения нарушений при проведении ограничительных мероприятий (определен как 1%-й уровень) утверждать, что факт выявления того или иного числа нарушений не случайность, а статистическая достоверность. В данном случае минимально достаточным числом проверок является 10 и более проверочных мероприятий, проведенных в отношении государственных служб субъектов РФ со стороны специалистов Россельхознадзора [4]. Было установлено, что статистическая значимость и достоверность результатов проверок, проводимых в период с 2014 по 2016 г. в 15 субъектах, не могут быть объективно оценены в рамках настоящего исследования, поскольку количество проведенных ветеринарными службами ограничительных мероприятий и, следовательно, проведенных проверок не достигает 10. То есть выбранные для анализа подходы к ветеринарным службам этих регионов неприменимы.

Поэтому можно с уверенностью констатировать, что ветеринарные службы 49 субъектов страны при установлении ограничительных мероприятий допускают нарушения законодательства РФ в той или иной степени. И лишь в 25 регионах деятельность ветеринарной службы по установлению ограничительных мероприятий и карантина проводилась в полном соответствии с требованиями национального законодательства (рис. 2). В 3 субъектах продемонстрировано крайне низкое качество деятельности – каждый случай установления ограничительных мероприятий осуществлялся с нарушениями.

Что же касается деятельности региональных ветеринарных служб, связанной с отменой ограничительных мероприятий/карантина, то ситуация еще более драматична: лишь в 8 субъектах страны указанные мероприятия осуществлялись при надлежащем следовании установленным требованиям. То есть отмена ограничительных мероприятий в большинстве регионов страны проводилась с несоблюдением в той или иной степени законодательства страны (рис. 2).

Полученные результаты могут косвенно указывать на то, что допускаемые ветеринарной службой нарушения носят систематический и практически повсеместный характер.

Среди наиболее часто фиксируемых нарушений можно выделить следующие:

- нарушение сроков внесения представлений и принятия решения об установлении ограничительных мероприятий (карантина);
- нарушение сроков установления и снятия ограничительных мероприятий (карантина);
- неустановление ограничительных мероприятий при выявлении болезней животных, при которых требуется их введение;
- нарушения в организации проведения мероприятий по ликвидации очагов инфекционных болезней в части, касающейся установления диагноза, определения границ эпизоотического очага и неблагополучных территорий, непроведение в полном объеме мероприятий, направленных на профилактику и превенцию болезней, и т. д.

Вместе с тем результаты проведенного анализа позволяют получить общее представление о сложившейся

ситуации в регионах страны по рассматриваемому вопросу, но не позволяют ранжировать регионы по способности ветеринарной службы организовывать ограничительные мероприятия в полном соответствии с национальным законодательством.

Поэтому в целях объективного принятия в оценку абсолютных показателей, характеризующих деятельность ветеринарных служб отдельных регионов страны, ввели такой критерий, как «показатель качества проводимых ветеринарной службой мероприятий при установлении/отмене ограничительных мероприятий (карантина) на территории субъекта РФ» (ПКМ), который рассчитывается по следующей формуле:

$$\text{ПКМ} = M_{\text{БН}} / M_{\text{Б}} \times 100,$$

где $M_{\text{БН}}$ – всего установлено и/или отменено *без нарушений* карантинных и/или ограничительных мероприятий на территории субъекта за отчетный период (ед.);

$M_{\text{Б}}$ – всего установлено и/или отменено карантинных и/или ограничительных мероприятий на территории субъекта за отчетный период (ед.).

Обозначенный выше показатель базируется на сохранении таких понятий, как «качество» и «качество создания продукции» [2, 3], и предназначен для оценки степени соответствия проведенных мероприятий («выполненное») тому объему мероприятий, который предусмотрен соответствующей нормативной документацией («регламентированное»).

При этом при определении степени соответствия отталкивались от базового (эталонного) значения показателя качества проводимых ветслужбой мероприятий, принятого за основу при сравнительной оценке их качества. Указанное базовое значение принято за 100% (ветеринарно-санитарные мероприятия по установлению и отмене карантина (ограничений) выполняются в полном объеме и в строгом соответствии с действующим законодательством РФ в области ветеринарии). Соответствие эталонному значению является чрезвычайно важным, так как ветеринарно-санитарные и фитосанитарные меры – это обязательные для исполнения требования и процедуры, устанавливаемые в целях защиты от рисков, возникающих в связи с проникновением, закреплением или распространением вредных организмов, болезней, переносчиков болезней или болезнетворных организмов и т. д. [7]. Кроме того, согласно статье 2 закона «О ветеринарии», ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий являются нормативными правовыми актами, устанавливающими обязательные для исполнения физическими и юридическими лицами требования при осуществлении соответствующих мероприятий [6].

Ветеринарно-санитарные мероприятия по наложению и отмене карантина (ограничений), выполненные в недостаточно полном объеме и/или не в строгом соответствии с действующим законодательством РФ в области ветеринарии (т. е. допущены какие-либо нарушения), являются *инцидентами*, способными привести к ситуации, требующей последующей дополнительной коррекции для достижения приемлемого уровня риска воздействия опасных биологических факторов на биосферу, техносферу и экологическую систему при обеспечении биологической безопасности территории РФ. Иными словами, каждое допущенное нарушение при организации ветеринарной службой карантинных/

Таблица
Оценочные уровни качества деятельности ветеринарной службы

Значение ПКМ для субъекта РФ, %	Оценочный уровень	Уровень качества деятельности ветеринарной службы
100	Высокий	ПРИЕМЛЕМЫЙ
99–95	Удовлетворительный	
Ниже 95	Неудовлетворительный	НЕПРИЕМЛЕМЫЙ

ограничительных мероприятий повышает уровень риска нарушений ветеринарно-санитарного и эпидемиологического благополучия территории и популяции животных и населения, т. е. увеличивается вероятность негативных изменений эпизоотического/эпидемического состояния популяции животных и населения.

Однако в рамках настоящего исследования следует учитывать то обстоятельство, что некоторые допущенные нарушения могут нести относительно низкую/незначительную опасность для общества, а уровень риска наступления неблагоприятного эффекта для общества и популяции животных эквивалентен рискам, существующим в повседневной деятельности и жизни населения. Более того, в ходе проведения проверочных мероприятий существует определенная вероятность того, что часть выявленных нарушений (или псевдонарушений) сформированы под воздействием определенных факторов. К числу таких факторов можно отнести:

- несовершенство (в некоторых случаях) законодательной базы, которое не исключает различных трактовок как действий подконтрольного субъекта, так и нормативных актов;
- добросовестное или недобросовестное заблуждение проверяющего лица;
- ориентация проверяющего на поиск как можно большего числа нарушений (в том числе и формального характера), т. е. работа на собственную отчетность и результативность;
- организационные факторы (несоответствие предмета проверки, нарушение правил проведения проверки).

Поэтому в данном исследовании принято допущение, что в 1–5% случаев проведенные с выявленными в ходе проверки нарушениями (от общего их числа) мероприятия по установлению/отмене карантина не вызовут наступления неблагоприятного эффекта для общества и популяции животных.

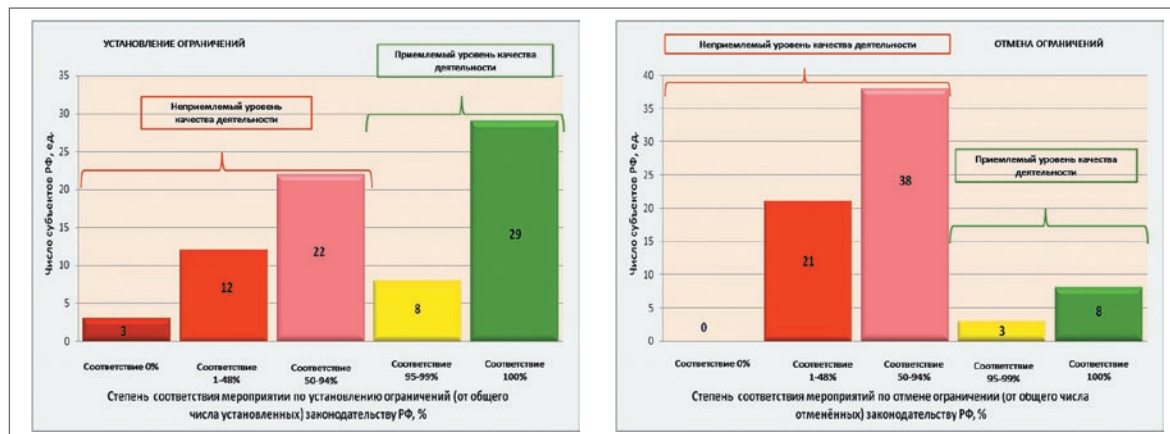
В результате, базируясь на критерии ПКМ и учитывая принятые допущения, сформировали оценочные уровни (таблица) и определили уровни качества деятельности ветеринарных служб субъектов РФ, связанной с исполнением ими переданных полномочий РФ по установлению и отмене ограничительных мероприятий/карантина (рис. 3).

Представленные на рисунке 3 результаты анализа свидетельствуют о том, что лишь в 37 из 74 анализируемых регионов страны организация мероприятий **по установлению** ограничений/карантина проводится на приемлемом уровне, т. е. в полном или допустимом соответствии национальному законодательству. Результаты проведенных проверок в другой половине субъектов ($n = 37$) свидетельствуют о ненадлежащем исполнении требований законодательства при организации и проведении ограничительных/карантинных мероприятий по факту возникновения болезней животных, а именно при их установлении.

Обстановка с организацией и проведением мероприятий **по отмене** ограничительных мероприятий/карантина вызывает еще более серьезные опасения и требует принятия дополнительных корректирующих мер ввиду того, что для ветеринарных служб 59 субъектов страны (из 70 анализируемых) показан ненадлежащий уровень качества деятельности по рассматриваемому в данном исследовании направлению.

Последующий корреляционный анализ показал, что качество проведения мероприятий по установлению ограничений и качество проведения мероприятий по отмене ограничений в субъектах страны (на основании полученных значений ПКМ для каждого из субъектов страны) практически не зависят друг от друга, поскольку статистическая связь этих двух показателей достаточно слабая (коэффициент корреляции $r = 0,4$ при $p < 0,05$). Иными словами, в большинстве регионов

Рис. 3. Качество деятельности ветеринарных служб субъектов РФ



ограничения могут устанавливаться при надлежащем следовании законодательству РФ, а снятие ограничений – с нарушением национального законодательства и наоборот. Данный факт наглядно продемонстрирован на рисунке 3.

Также не продемонстрировано достаточной корреляционной связи между количеством проведенных в регионах мероприятий по установке и отмене ограничений и качеством их проведения, т. е. количеством мероприятий, проведенных без нарушений национального законодательства ($r = 0,03$ (установление ограничений) и $r = 0,12$ (отмена ограничений) при $p < 0,05$). В результате можно лишь с уверенностью утверждать, что нагрузка на ветеринарные службы регионов страны не влияет на качество их проведения. То есть, с одной стороны, могут быть получены высокие показатели ПКМ для регионов, в которых число проведенных мероприятий исчисляется сотнями, с другой – продемонстрированы низкие значения ПКМ для регионов, в которых за три анализируемых года проведено, к примеру, чуть более 10 таких мероприятий. Причин сложившейся ситуации может быть множество, и не все факторы, определившие возникшую ситуацию, могут быть измерены количественно и подвергнуты количественному анализу. К примеру, они могут быть связаны с возможным несовершенством законодательства (в том числе и в ветеринарной его составляющей), пробелами в компетенции ветеринарных специалистов по некоторым вопросам, недостаточной функциональной оснащенностью ветеринарных служб (в том числе лабораторно-диагностической базы), некоторыми административными аспектами и другими факторами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты количественного анализа официальных данных, полученных от сотрудников территориальных управлений Россельхознадзора, свидетельствуют о том, что ситуация с качеством осуществления органами государственной власти субъектов РФ переданных им полномочий Российской Федерации в области ветеринарии достаточно напряженная. Для выяснения объективных причин, вызывающих сложившееся положение, требуется более детальное, прицельное исследование на местах со сбором необходимых для анализа входных данных по каждому случаю. В данной связи целью проведения проверок должна являться не только оценка соответствия деятельности ветеринарной службы требованиям, установленным соответствующими нормативными правовыми актами, и фиксация количества нарушений, но и их регистрация и систематизация, а также характер и выявление причин, повлекших за собой допущение того или иного нарушения. То есть процесс должен включать в себя ретроспективный анализ и далее принятие на его основе управленческих решений, которые помогут планированию, организации и корректировке осуществляемых профилактических и противоэпизоотических мероприятий в регионах и будут способствовать выработке законодательных инициатив в целях дальнейшей актуализации национальных законодательных актов.

Таким образом, на сегодня сформировалась необходимость перехода к процессу ретроспективного аудита эффективности ветеринарных служб по описанному выше принципу, что будет способствовать повышению эффективности осуществления органами государ-

ственной власти субъектов РФ переданных им полномочий Российской Федерации в области ветеринарии. И в конечном итоге будет содействовать повышению качества и эффективности реализации одной из основных задач ветеринарии – предупреждению и ликвидации болезней животных с ориентацией на увеличение положительного эффекта для общества.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляков В. Д., Дегтярев А. А., Иванников Ю. Г. Качество и эффективность противоэпидемических мероприятий. – Л.: Медицина, 1981. – 304 с.
2. ГОСТ 15467-79. Управление качеством продукции. Основные понятия. Термины и определения. – М.: Стандартинформ, 2009. – 21 с.
3. ГОСТ ISO 9000-2011. Системы менеджмента качества. Основные положения и словарь. – М.: Стандартинформ, 2012. – 28 с.
4. Дудников С. А. Количественная эпизоотология: основы прикладной эпизоотологии и биостатистики. – Владимир: Демидур, 2004. – 460 с.
5. Об утверждении порядка осуществления контроля за полнотой и качеством осуществления органами государственной власти субъектов Российской Федерации переданных им полномочий Российской Федерации в области ветеринарии: приказ Минсельхоза России от 27.03.2014 № 100. – URL: <https://minjust.consultant.ru/documents/11139>.
6. О ветеринарии: закон РФ от 14.05.1993 № 4979-1 (ред. от 03.07.2016). – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_4438.
7. О техническом регулировании: Федеральный закон от 27.12.2002 № 184-ФЗ (ред. от 29.07.2017). – URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_76318/d2bd90501ec732f2119c37ad645451ef92df30ca.
8. Основы ретроспективного анализа инфекционной заболеваемости: учебное пособие для студентов / Н. Н. Потехина, О. В. Ковалишова, Ю. Г. Пискарев [и др.]; под ред. В. В. Шкарина, Р. С. Рахманова. – Н. Новгород: Нижегородская гос. мед. академия, 2009. – 160 с.

REFERENCES

1. Belyakov V. D., Degtyarev A. A., Ivannikov Yu. G. Quality and efficacy of anti-epidemic measures [Kachestvo i effektivnost' protivoepidemicheskikh meropriyatij]. L.: Meditsina, 1981 (in Russian).
2. GOST 15467-79. Product quality management. Basic concepts. Terms and definitions [Upravlenie kachestvom produktsii. Osnovnye ponyatiya. Terminy i opredeleniya]. M.: Standartinform, 2009 (in Russian).
3. GOST ISO 9000-2011. Quality management systems. Fundamentals and vocabulary [Sistemy menedzhmenta kachestva. Osnovnye polozheniya i slovar']. M.: Standartinform, 2012 (in Russian).
4. Dudnikov S. A. Quantitative epizootology: fundamentals of applied epidemiology and biostatistics [Kolichestvennaya epizootologiya: osnovy prikladnoy epidemiologii i biostatistiki]. Vladimir: Demidur, 2004 (in Russian).
5. On approval of control procedure for completeness and quality of the implementation by state bodies of the subjects of the Russian Federation of the powers of the Russian Federation transferred to them in the field of veterinary medicine [Ob utverzhdenii poryadka osushchestvleniya kontrolya za polnotoj i kachestvom osushchestvleniya organami gosudarstvennoj vlasti sub'ektov Rossijskoj Federacii peredannyh im polnomochij Rossijskoj Federacii v oblasti veterinarii]: Order of the Ministry of Agriculture No. 100 of March 27, 2014. URL: <https://minjust.consultant.ru/documents/11139> (in Russian).
6. Veterinary Law of the Russian Federation from 14.05.1993 No. 4979-1 (amended on July 03, 2016) [O veterinarii: zakon RF ot 14.05.1993 № 4979-1 (red. ot 03.07.2016)]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_4438 (in Russian).
7. On technical regulation: Federal Law of December 27, 2002 No. 184-FZ (amended on July 29, 2017) [O tekhnicheskome regulirovanii: Federal'nyj zakon ot 27.12.2002 № 184-FZ (red. ot 29.07.2017)]. URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_76318/d2bd90501ec732f2119c37ad645451ef92df30ca (in Russian).
8. Fundamentals of retrospective analysis of infectious morbidity: student training manual [Osnovy retrospektivnogo analiza infekcionnoj zabolevaemosti: uchebnoe posobie dlya studentov]. N. N. Potekhina, O. V. Kovaleva, Yu. G. Piskaryov [et al.]; ed. by V. V. Shkarina, R. S. Rakhmanova. N. Novgorod: Nizhny Novgorod State Medical Academy, 2009 (in Russian).

Поступила 18.01.19

Принята в печать 15.04.19

УДК 636.1:612.017.11/.12:636.087.8:615.284

DOI 10.29326/2304-196X-2019-2-29-56-59

КОРРЕКТИРОВКА некоторых показателей гуморального иммунитета лошади пробиотическим препаратом на фоне применения антигельминтика из группы макроциклических лактонов

О. А. Муллагалиева¹, Е. Н. Закрепина²¹ Аспирант, ФГБОУ ВО «Вологодская ГМХА им. Н. В. Верещагина», г. Вологда-Молочное, Россия, e-mail: mullagalieva.lady-oksana@yandex.ru; ORCID ID 0000-0001-5631-5595² Доцент, кандидат ветеринарных наук, ФГБОУ ВО «Вологодская ГМХА им. Н. В. Верещагина», г. Вологда-Молочное, Россия; ORCID ID 0000-0002-4185-9810

РЕЗЮМЕ

Многочисленными исследованиями установлено, что и сами инвазионные болезни, и применение некоторых антигельминтиков негативно влияют на иммунитет лошади, нарушая нормальную микрофлору кишечника. Антигельминтики из группы макроциклических лактонов зарекомендовали себя как высокоэффективные препараты, однако их влияние на гуморальный иммунитет лошади изучено недостаточно. Также слабо освещенным остается вопрос об иммунокоррекции с использованием пробиотических препаратов. В статье представлены результаты влияния параскариозно-стронгилятозной инвазии и дегельминтизации препаратом из группы макроциклических лактонов на некоторые показатели гуморального иммунитета лошади. Впервые получены данные о действии пробиотика Bioxymin horse на бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови. Работу проводили с декабря 2018 по январь 2019 года. Результаты исследований показали, что глистная инвазия и использование антигельминтного препарата «Универм» оказывают депрессивное действие на некоторые показатели гуморального иммунитета лошади. Это также отражается на экстенсивности антигельминтика. Пробиотик Bioxymin horse оказывает стимулирующее действие на гуморальный иммунитет лошади.

Ключевые слова: лошади, инвазионные болезни, дегельминтизация, макроциклические лактоны, гуморальный иммунитет, пробиотики.

UDC 636.1:612.017.11/.12:636.087.8:615.284

IMPROVING some parameters of antibody response in horses by probiotic agents against background use of macrocyclic lactone anthelmintic

O. A. Mullagaliyeva¹, Ye. N. Zakrepina²¹ Post-Graduate Student, FSBEI HPE "Vologda SDFA named after N. V. Vereshchagin", Vologda-Molochnoye, Russia, e-mail: mullagalieva.lady-oksana@yandex.ru; ORCID ID 0000-0001-5631-5595² Associate Professor, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FSBEI HPE "Vologda SDFA named after N. V. Vereshchagin", Vologda-Molochnoye, Russia; ORCID ID 0000-0002-4185-9810

SUMMARY

Multiple researches demonstrate that both invasive diseases and use of anthelmintics adversely affect horse immunity harming the gut flora. Macrocyclic lactone anthelmintics are proved to be highly effective agents but there is insufficient knowledge of their effect on the horse antibody immunity. The issue of immune system correction by the probiotic agents is also underreported. The paper demonstrates the results of the effect made by parascariodosis and strongylidosis invasion and deworming using the macrocyclic lactone drug on some parameters of antibody response in horses. Data on effect of probiotic Bioxymin horse on blood serum bacteriocidal and lysozyme activity were reported for the first time. The research was performed from December 2018 to January 2019. The results demonstrated that helminthic invasion and anthelmintic drug Univerm make depressive effect on some parameters of antibody response in horses. It also has an impact on the extensive efficacy of the anthelmintic agent. Probiotic Bioxymin horse makes a stimulating effect on the antibody response in horses.

Key words: horses, invasive diseases, deworming, macrocyclic lactones, antibody response, probiotics.

ВВЕДЕНИЕ

Гельминтозы наносят существенный экономический ущерб коневодству [8]. Гельминты оказывают неблагоприятное влияние на иммунитет лошади, вызывая вторичные иммунодефициты. Кроме того, изменяется количественный и качественный состав нормальной микрофлоры организма хозяина, появляется дисбактериоз, который осложняет течение паразитарного заболевания и нередко обуславливает длительную дисфункцию кишечника. Известно, что инвазионные болезни способны активизировать воздействие условно-патогенных микробов на организм лошади [3, 5].

Применение антигельминтных препаратов негативно влияет на нормальную микрофлору желудочно-кишечного тракта животных, вызывая побочные эффекты, такие как эндотоксикозы [12].

Антигельминтики способны вызывать изменения количественных и функциональных показателей иммунной системы крови [1, 4, 5, 7, 9, 11]. Препараты из группы макроциклических лактонов являются высокоэффективными средствами, но влияние их на иммунитет лошади требует изучения [8, 9].

В современной ветеринарии особое внимание обращено на пробиотические препараты. По некоторым данным, при попадании пробиотиков в кишечник животных происходит выраженная перестройка систем, ответственных за неспецифическую резистентность и активацию Т-клеточного звена иммунитета. Под влиянием пробиотиков возрастает активность сывороточного лизоцима, усиливаются фагоцитоз и бактерицидная активность сыворотки крови [2, 12]. Сейчас на рынке ветеринарных препаратов представлено достаточное количество пробиотиков для лошадей. Однако вопросы об их совместимости с препаратами других групп все еще мало изучены.

В связи с вышеизложенным целью работы явилось изучение возможности коррекции некоторых показателей гуморального иммунитета лошади новым отечественным пробиотиком Bioxumin horse на фоне применения антигельминтика из группы макроциклических лактонов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились с декабря 2018 по январь 2019 г. в СПК «ПКЗ» «Вологодский» и на кафедре микробиологии и эпизоотологии Вологодской ГМХА. Объектами исследования явились лошади русской рысистой породы разных возрастных групп.

На первом этапе работы на основании эпизоотологических данных, клинических признаков, результатов гельминтовопроскопических исследований с использованием флотационного метода Фюллеборна установили диагноз на параскариоз (параскаридоз), стронгилятоз.

Состояние гуморального звена иммунитета оценивали по показателям бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) и лизоцимной активности сыворотки крови (ЛАСК). Предмет исследования – сыворотка крови. Кровь у лошадей брали из яремной вены. Для получения сыворотки крови использовали вакуумные пробирки с активатором свертывания (SiO_2).

Исследования проводили согласно «Методическим рекомендациям по оценке естественной резистентности сельскохозяйственных животных» [10].

Бактерицидную активность сыворотки крови изучали с использованием тест-культуры *Escherichia coli*,

лизоцимную активность сыворотки крови – с использованием тест-культуры *Micrococcus lysodeikticus* в форме взвеси с концентрацией микробных клеток 1 млрд м. к./мл.

Кровь исследовали четырехкратно: до дегельминтизации и после – на 7, 15 и 45-е сутки.

Все эксперименты на животных проводили согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2012 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Microsoft Excel-2003. Оценка достоверности различий между показателями производилась с использованием параметрического критерия Стьюдента [6].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате паразитологических исследований в ноябре 2018 г. у лошадей русской рысистой породы Вологодской области выявлено 2 нематодоза: параскариоз и стронгилятоз. Экстенсивность инвазии параскариозом составила 50%, стронгилятозом – 16%.

Для дегельминтизации использовали препарат «Универм» (действующее вещество аверсектин С – 2 мг в 1 г), относящийся к четвертому классу опасности. Согласно инструкции препарат задавали внутрь с кормом в дозе 2,5 г на 50 кг массы тела лошади.

В процессе исследования установлена 100%-я экстенсивность препарата «Универм» при параскариозно-стронгилятозной инвазии. Пролонгированное действие антигельминтика наблюдалось в течение 30 сут. На 30-е сут после дегельминтизации экстенсивность препарата составила 80%.

В ходе эксперимента животные были разделены на 4 группы: контрольная – клинически здоровые животные (n=9); фоновая – спонтанно инвазированные недегельминтизированные (n=5); опытная 1 – инвазированные дегельминтизированные (n=13); опытная 2 – инвазированные дегельминтизированные на фоне пробиотика (n=13).

Для фармакостимуляции добавляли в корм пробиотический препарат Bioxumin horse в дозе 20 г на голову за 3 сут до дегельминтизации, во время дегельминтизации и после нее в течение месяца. В состав пробиотика входят бактерии рода *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*.

Результаты активности гуморального иммунитета лошадей до и после дегельминтизации представлены в таблицах 1 и 2, на рисунках 1 и 2.

Установлено, что до дегельминтизации БАСК пораженных (опытная группа 1 – $67,4 \pm 6,7\%$, фоновая группа – $73,8 \pm 9,9\%$) и клинически здоровых животных (контрольная группа – $73,5 \pm 3,7\%$) существенно не отличалась и находилась на высоком уровне. БАСК лошадей, получавших пробиотик (опытная группа 2 – $62,1 \pm 4,6\%$), была ниже на 15% в сравнении с контрольной группой здоровых животных.

Через 7 сут после дегельминтизации у лошадей опытных групп БАСК снизилась в 1,7 раза ($38,2 \pm 3,3\%$ и $35 \pm 2,6\%$ соответственно), а у животных, не получавших антигельминтика, – в 3 раза (контрольная группа – $23,7 \pm 3,9\%$, фоновая группа – $23,7 \pm 4\%$). В опытных группах значения БАСК оказались выше показателей контрольной и фоновой групп. Достоверные измене-

Таблица 1
Бактерицидная активность сыворотки крови (%)

Группа	До дегельминтизации	7 дней	15 дней	45 дней
Контрольная	73,5 ± 3,7	23,7 ± 3,9	68,8 ± 3,9	44,1 ± 6,8*
Фоновая	73,8 ± 9,9	23,7 ± 4*	59,2 ± 4,7	41 ± 8,7*
Опытная 1	67,4 ± 6,7	38,2 ± 3,3*	64,7 ± 4,5	39,9 ± 4,4*
Опытная 2	62,1 ± 4,6	35 ± 2,6*	76 ± 3,5*	38 ± 4,2*

* $p < 0,05-0,001$ – достоверно по отношению к показателям до дегельминтизации.

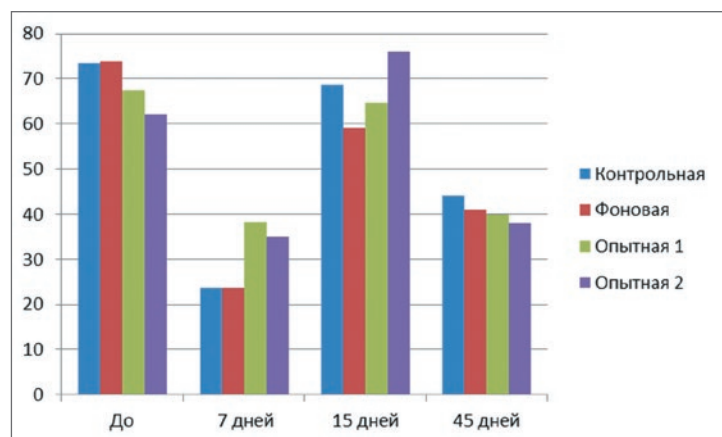


Рис. 1. Динамика бактерицидной активности сыворотки крови

Таблица 2
Лизоцимная активность сыворотки крови (%)

Группа	До дегельминтизации	7 дней	15 дней	45 дней
Контрольная	31,5 ± 1,2	35,9 ± 2,1*	41,3 ± 1,2*	34,6 ± 2,1
Фоновая	25,1 ± 1,6**	30,9 ± 2,5	37,3 ± 2,2*	33,8 ± 3,9
Опытная 1	25,2 ± 1,2**	37,2 ± 1,9*	40,3 ± 1	33,4 ± 2,3*
Опытная 2	27,3 ± 1**	37,8 ± 2*	35,9 ± 1,5**	33,5 ± 1,9*

* $p < 0,05-0,001$ – достоверно по отношению к показателям до дегельминтизации,

** $p < 0,05$ – достоверно относительно контроля.

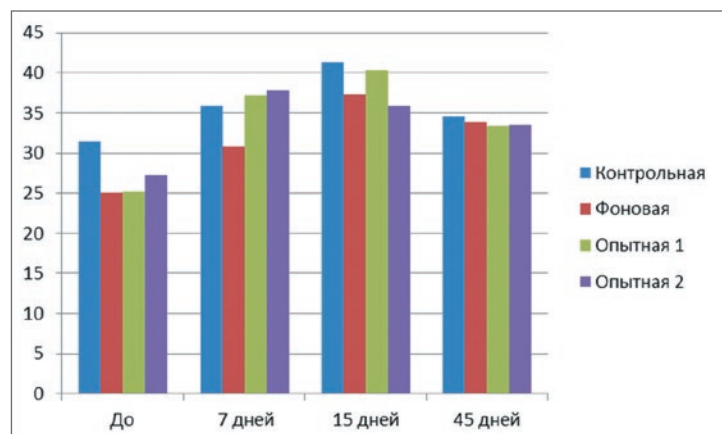


Рис. 2. Динамика лизоцимной активности сыворотки крови

ния БАСК в контрольной группе установлены только на 45 сут исследования.

Достоверное снижение показателей БАСК получено в фоновой и опытных группах на 7 сут после дегельминтизации (фоновая группа – 23,7 ± 4%, опытная 1 – 38,2 ± 3,3%, опытная 2 – 35 ± 2,6%).

Спустя 15 сут после дегельминтизации значение БАСК контрольной, фоновой и опытной 1 групп увеличилось в 3, 2,5 и 1,7 раза соответственно относительно результатов, полученных через 7 сут после дегельминтизации. Однако показатели БАСК в этих группах не достигли значений, полученных до дегельминтизации. БАСК лошадей, которым давали пробиотик (опытная группа 2), увеличилась на 22,5% (76 ± 3,5%) по сравнению с результатами до дегельминтизации. Различия статистически достоверны ($p < 0,05$).

После 45 сут бактерицидная активность в сравнении с результатами до дегельминтизации снизилась в контрольной группе в 1,6 раза (44,1 ± 6,8%), в фоновой группе – в 1,8 раза (41 ± 8,7%), в опытной 1 – в 1,7 раза (39,9 ± 4,4%), в опытной 2 – в 1,6 раза (38 ± 4,2%). Полученные данные статистически достоверны ($p < 0,05$).

Лизоцимная активность сыворотки крови в начале опыта у здоровых животных (31,5 ± 1,2%) оказалась выше на 20% по сравнению с инвазированными глистами лошадьми (фоновая группа – 25,1 ± 1,6%, опытная 1 – 25,2 ± 1,2%, опытная 2 – 27,3 ± 1%). В опытной группе 2 значение ЛАСК оказалось выше, чем в фоновой и опытной 1 группах, но ниже показателей здоровых животных.

В контрольной группе на протяжении всего опыта лизоцимная активность изменялась незначительно и была чуть выше, чем у лошадей опытных и фоновой групп.

Спустя 7 сут после дегельминтизации в опытных группах значение ЛАСК возросло в 1,5 раза (37,2 ± 1,9% и 37,8 ± 2%) и превысило показатели здоровых животных (35,9 ± 2,1%). Полученные данные являются статистически значимыми ($p < 0,05$).

Получены достоверные различия ЛАСК у лошадей фоновой и контрольной групп на 15-й день после дегельминтизации относительно показателей до дегельминтизации (фоновой группы – 59,2 ± 4,7%, контрольной – 68,8 ± 3,9%).

К 45-м сут показатели ЛАСК крови у дегельминтизированных лошадей первой (33,4 ± 2,3%) и второй (33,5 ± 1,9%) опытных групп возросли на 25% по сравнению с показателями ЛАСК до дегельминтизации, но оказались ниже значений для здоровых животных контрольной группы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования отмечено достоверное снижение БАСК лошадей после дегельминтизации препаратом «Универм». К 45-м сут опыта восстановления показателей БАСК дегельминтизированных лошадей до значений показателей для здоровых животных не произошло. Вероятно, это обусловлено токсическим действием антигельминтика и влиянием антигенов, выделяющихся при гибели паразитов.

Спустя 15 сут после дегельминтизации значение БАСК у животных, получавших пробиотик Bioxumin horse, превысило показатели здоровых животных на 9,5%, зараженных недегельминтизированных – на 22%, зараженных дегельминтизированных – на 15%. Также

на 15-е сут отмечено достоверное увеличение БАСК на 18% у лошадей, получавших пробиотик, относительно показателей до дегельминтизации ($p < 0,05$). Из вышеизложенного можно сделать вывод о стимулирующем действии пробиотика Bioxumin horse на бактерицидную активность сыворотки крови лошадей.

У здоровых лошадей на протяжении всего опыта показатели ЛАСК на порядок выше в сравнении с животными с параскариозно-стронгилятозной инвазией. Это указывает на отрицательное воздействие инвазионных болезней на лизоцимную активность сыворотки крови лошадей. При этом значительного влияния антигельминтика «Универм» на ЛАСК не выявлено. Установлено, что у лошадей, получавших пробиотик Bioxumin horse, показатели ЛАСК до дегельминтизации выше, чем у зараженных недегельминтизированных и у зараженных дегельминтизированных животных.

К 45-м сут исследования динамика показателей ЛАСК меняет свою направленность в сторону уровня «до дегельминтизации», что свидетельствует о повторном инвазировании гельминтами опытных животных. Это подтверждается и снижением экстенсэффективности препарата до 80% на 30-е сут опыта.

Анализ результатов исследований свидетельствует о том, что и глистная инвазия, и использование антигельминтного препарата «Универм» из группы макроциклических лактонов оказывают депрессивное влияние на гуморальный иммунитет лошади. Это также отражается на экстенсэффективности антигельминтика.

Пробиотик Bioxumin horse положительно действует на некоторые показатели гуморального иммунитета лошади. Корректировка гуморального иммунитета пробиотиком Bioxumin horse в период дегельминтизации препаратом из группы макроциклических лактонов возможна и требует дальнейшего изучения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Архипов И. А. Антигельминтики: фармакология и применение. – М., 2009. – 406 с.
- Данилевская Н. В., Ливанова М. А., Ливанова Т. К. Опыт коррекции дерматологических нарушений и обмена веществ у жеребых племенных кобыл в зимне-весенний период // Материалы V Междунар. науч.-практ. конф. по болезням лошадей. – М., 2004. – С. 129–134.
- Евсеева О. В. Влияние аскаридов на состав и свойства микрофлоры пищеварительного канала свиней и нормализация ее состава пробиотиком: дис. ... канд. биол. наук. – М., 1999. – 120 с.
- Ершов В. С., Наумычева М. И. Иммунитет при гельминтозах // Гельминтозы с.-х. животных. Итоги науки. – М., 1970. – С. 5–41.
- Звягинцева Н. С., Ясинецкая Н. И., Головкина Л. П. Опыт оздоровления аверсектиновыми препаратами диких и домашних лошадей от энтеропаразитов // Материалы VI Междунар. симпозиума, посвящ. 100-летию разведения лошади Пржевальского в заповеднике «Аскания-Нова». – Киев, 1999. – С. 100–101.
- Лакин Г. Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1973. – 343 с.
- Ларина Л. П., Курочкина К. Г. Влияние фезола на иммунный ответ // Тр. Всероссийского НИИ гельминтологии им. К. И. Скрябина. – М., 2006. – Т. 42. – С. 193–199.
- Муллагалиева О. А. Использование противопаразитарных препаратов при нематодозах лошадей // Молодые исследователи агропромышленного и лесного комплексов – регион: материалы II Междунар. молодежн. науч.-практ. конф., 27 апреля 2017 г. – Вологда: ФГБОУ ВО Вологодская ГМХА, 2017. – С. 84–87.
- Муллагалиева О. А. Оценка уровня естественной резистентности лошадей на фоне применения антигельминтика из группы макроциклических лактонов // Молодые исследователи агропромышленного

и лесного комплексов – регион: материалы III Междунар. молодежн. науч.-практ. конф., 26 апреля 2018 г. – Вологда: ФГБОУ ВО Вологодская ГМХА, 2018. – С. 103–108.

10. Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных: методические рекомендации // Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Ч. 4: Лабораторные методы исследований инфекционной патологии животных. – М., 2008. – С. 100–117.

11. Саушкин В. В. Комплексный антипаразитарный препарат, не обладающий иммуносупрессией // Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: материалы докладов научн. конф. – М., 2001. – С. 246–247.

12. Технология применения препарата «Сахабактисубтил» для нормализации кишечного микробиоценоза лошадей при дегельминтизации / Л. М. Колова, Н. П. Тарабукина, М. П. Неустроев, Л. Ю. Гаврильева; под ред. М. П. Неустроева. – Якутск: ФГБНУ ЯНИИСХ, 2013. – 14 с.

REFERENCES

- Arkhipov I. A. Anthelmintics: pharmacology and use [Antigel'mintiki: farmakologiya i primeneniye]. M., 2009 (in Russian).
- Danilevskaya N. V., Livanova M. A., Livanova T. K. Best practice of dermatological and metabolic disorder correction in pregnant breeding mares in winter and spring [Opyt korrektsii dermatologicheskikh narushenij i obmena veshchestv u zherebyh plemennykh kobyl v zimne-vesennij period]. *Proceedings of International research conference on equine diseases*. M., 2004; 129–134 (in Russian).
- Yevseyeva O. V. Effect of Ascaris on gut flora composition and properties in pigs and recovery of its composition with probiotic [Vliyaniye askarisoov na sostav i svoystva mikroflory pishchevaritel'nogo kanala sviney i normalizatsiya ee sostava probiotikom]: theses. ... Candidate of Science (Veterinary Medicine). M., 1999 (in Russian).
- Yershov V. S., Naumycheva M. I. Immunity at helminthic infestation [Immunitet pri gel'mintoze]. *Gel'mintozy s.-h. zhivotnykh. Itogi nauki*. M., 1970; 5–41 (in Russian).
- Zvyagintseva N. S., Yasinetskaya N. I., Golovkina L. P. Best practice of treatment of wild and domestic horses against enteroparasites with aversectins [Opyt ozdorovleniya aversektinovymi preparatami dikih i domashnih loshadey ot enteroparazitov]. *Proceedings of the VIth International symposium devoted to the 100 anniversary of Przewalski's horse in Askania-Nova reserve*. Kyiv, 1999; 100–101 (in Russian).
- Lakin G. F. Biometrics [Biometriya]. M.: Vysshaya shkola, 1973 (in Russian).
- Larina L. P., Kurochkina K. G. Fezol effect on immune response [Vliyaniye fezola na immunnyj otvet]. *Proceedings of All-Russian RI of Helminthology named after K. I. Skryabin*. M., 2006; 42: 193–199 (in Russian).
- Mullagaliyeva O. A. Use of antiparasitic agents against equine nematodes [Ispol'zovanie protivoparazitarnykh preparatov pri nematodozakh loshadey]. *Molodye issledovateli agropromyshlennogo i lesnogo kompleksov – regionam: Proceedings of the II International Research-to-Practice Youth Conference, April 27, 2017*. Vologda: FSBEI HPE "Vologda SDFA named after N. V. Vereshchagin", 2017; 84–87 (in Russian).
- Mullagaliyeva O. A. Young researchers of agro-industrial and forestry complexes to the regions [Ocenka urovnya estestvennoy rezistentnosti loshadey na fone primeneniya antgel'mintika iz gruppy makrociklicheskikh laktonov]. *Molodye issledovateli agropromyshlennogo i lesnogo kompleksov – regionam: Proceedings of the IId International Research-to-Practice Youth Conference, April 27, 2017*. Vologda: FSBEI HPE "Vologda SDFA named after N. V. Vereshchagin", 2018; 103–108 (in Russian).
- Evaluation of natural resistance of farm animals: methodical instructions [Ocenka estestvennoy rezistentnosti sel'skhozaystvennykh zhivotnykh: metodicheskie rekomendatsii]. *Novye metody issledovaniy po problemam veterinarnoy mediciny. Ch. 4: Laboratornye metody issledovaniy infektsionnoy patologii*. M., 2008; 100–117 (in Russian).
- Saushkin V. V. Complex antiparasitic agent lacking immunosuppression [Kompleksnyy antiparazitarnyy preparat, ne obladayushchiy immunosupressiej]. *Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami: Proceedings of the research conference*. M., 2001; 246–247 (in Russian).
- Sakhabactisubtil administration technology for normalization of intestinal microbiocenosis of horses during deworming [Tekhnologiya primeneniya preparata «Sahabaktisubtil» dlya normalizatsii kishechnogo mikrobiocenoza loshadey pri degel'mintizatsii]. L. M. Kokolova, N. P. Tarabukina, M. P. Neustroyev, L. Yu. Gavriyleva; ed. by M. P. Neustroyev. – Yakutsk: FGBRI YSRIA, 2013 (in Russian).

Поступила 11.04.19

Принята в печать 30.04.19

УДК 637:579.842.23:579.842.1/2

DOI 10.29326/2304-196X-2019-2-29-60-65

ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ МЕТОДИКИ ВЫДЕЛЕНИЯ *YERSINIA ENTEROCOLITICA* В СЫРЬЕ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

И. В. Бородкина¹, Н. Б. Шадрова², О. В. Прунтова³, С. И. Данильченко⁴¹ Руководитель сектора, аспирант, филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия, e-mail: borodkina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5324-7678² Заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shadrova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7510-1269³ Главный эксперт, доктор биологических наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: pruntova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3143-7339⁴ Руководитель лабораторно-диагностического центра, кандидат ветеринарных наук, филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия, e-mail: danylchenko@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7796-7349

РЕЗЮМЕ

В настоящее время во всех странах мира наблюдается тенденция к росту числа заболеваний людей кишечным иерсиниозом, вызываемым бактерией *Yersinia enterocolitica*. Данный микроорганизм широко распространен в природе, способен длительное время сохраняться в продукции животного происхождения, размножаться при низких температурах. Основными источниками инфекции являются мясо и мясные продукты. Для выявления *Yersinia enterocolitica* из образцов пищевых продуктов и кормов для животных применяют горизонтальный метод обнаружения согласно ГОСТ ISO 10273-2013. Отмечено, что выделение *Yersinia enterocolitica* связано с определенными трудностями, так как часто возбудитель содержится в пробе в незначительных количествах, и только использование специальных методов позволяет исключить сопутствующую микрофлору. В работе предложено при выполнении стандартной методики предварительно проводить холодное обогащение исследуемого материала при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$. Проведена валидация методики согласно ГОСТ ISO 16140-2011. В результате установлено, что валидируемый метод выявления бактерий *Yersinia enterocolitica* в пищевых продуктах, реализуемый в условиях лаборатории микробиологических исследований, является специфичным. Чувствительность метода составляет 10 КОЕ/см^3 . Внутрелабораторная воспроизводимость и повторяемость подтверждены соответствующими испытаниями. Применение дополнительного этапа культивирования при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ позволяет полностью исключить рост не обладающих психрофильными свойствами микроорганизмов.

Ключевые слова: кишечный иерсиниоз, *Yersinia enterocolitica*, психрофильные микроорганизмы, холодное обогащение.

UDC 637:579.842.23:579.842.1/2

VALIDATION OF METHOD FOR *YERSINIA ENTEROCOLITICA* ISOLATION FROM RAW MATERIALS OF ANIMAL ORIGIN

I. V. Borodkina¹, N. B. Shadrova², O. V. Pruntova³, S. I. Danilchenko⁴¹ Head of Sector, Post-Graduate Student, FGBI "ARRIAH" Branch in Republic of Crimea, Simferopol city, Russia, e-mail: borodkina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5324-7678² Head of Laboratory, Candidate of Sciences (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shadrova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7510-1269³ Chief Expert, Doctor of Sciences (Biology), Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: pruntova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3143-7339⁴ Head of Laboratory and Diagnostic Centre, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH" Branch in Republic of Crimea, Simferopol city, Russia, e-mail: danylchenko@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7796-7349

SUMMARY

Upward trend in the number of human yersiniosis cases, caused by bacterium *Yersinia enterocolitica*, is globally observed nowadays. This microorganism is widely spread in the environment, able to persist for prolonged periods in animal products and propagate under low temperatures. Basic infection sources are meat and meat products. In order to isolate *Yersinia enterocolitica* from food and feed samples horizontal method for the detection pursuant to GOST ISO 10273-2013 was used. It was noted, that *Yersinia enterocolitica* isolation is associated with certain difficulties, because the sample contains only small quantities of the agent and only the use of special techniques allows removing the concurrent microflora. It was proposed to use cold enrichment $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ of the test material before conventional technique is started. The technique was validated pursuant to GOST ISO 16140-2011. As a result, it was established that validated method for *Yersinia enterocolitica* bacteria detection in food products, performed at the Microbiology Laboratory, is specific. The method sensitivity is 10 CFU/cm^3 . Intralaboratory reproducibility and repeatability were confirmed by relevant tests. Additional culture step at $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ allows complete inhibition of non-psychrophilic microorganisms' growth.

Key words: yersiniosis, *Yersinia enterocolitica*, psychrophilic microorganisms, cold enrichment.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время проблема заболевания людей кишечным иерсиниозом все чаще оказывается в центре внимания. По данным литературы, в Российской Федерации иерсиниозы занимают второе место после сальмонеллезов. Ежегодно регистрируется 4–5 тыс. случаев данных заболеваний. В Республике Крым и Севастополе иерсиниозы выявляют практически ежегодно [1, 13–15]. Возбудителем является бактерия *Yersinia enterocolitica*.

В первой половине XX века в Европе появились сообщения о выделении от больных людей и животных возбудителей, которых сначала отнесли к роду *Pasteurella*, обозначив их как *Pasteurella X*. В 1946 г. J. Van Loghem предложил выделить вышеуказанные бактерии в новый род – *Yersinia*. В 1954 г. H. Mollaret и E. Thal предложили включить род *Yersinia* в семейство *Enterobacteriaceae*. В дальнейшем в род *Yersinia* был добавлен возбудитель иерсиниоза – *Yersinia enterocolitica* (*Pasteurella X*) [1, 24].

Род *Yersinia* состоит из 11 видов, из них патогенными для человека являются три: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* [1, 24].

Y. enterocolitica – грамотрицательная палочка с закругленными концами или коккобактерия, размером от 0,8 до 1,2 мкм в длину и от 0,5 до 0,8 мкм в ширину, окрашивается всеми анилиновыми красителями, подвижная при температуре 18–20 °C, теряет свою подвижность при температуре культивирования 28–37 °C, имеет много перитрихально расположенных жгутиков. Факультативный аэроб, в условиях строгого анабиоза не растет, спор не образует. Отдельные штаммы *Y. enterocolitica* имеют фимбриии [1, 3, 16, 18, 24].

Бактерия растет при температуре от 4 до 40 °C, способна к росту при 5% концентрации NaCl и pH среды от 5,2 до 9,0. Культивируют иерсинии на мясо-пептонном агаре, агаре Хоттингера, Мартена, Эндо. Для селективного выделения используют CIN-агар, SSDC-агар, иерсиния-агар [1, 3, 16, 18, 24].

Y. enterocolitica продуцирует сероводород и аммиак, положительно реагирует в пробе с метиловым красным, восстанавливает нитраты в нитриты, не обладает фибринолитическими, плазмокоагулирующими и протеолитическими свойствами, вызывает гемолиз эритроцитов кролика [1, 3, 16, 24].

Иерсинии широко распространены в природе. *Y. enterocolitica* выделены практически от всех видов млекопитающих, птиц, рыб, земноводных, моллюсков и насекомых. Среди диких животных они встречаются главным образом у грызунов [1, 6, 9]. Бактерию также выделяют из продуктов растительного происхождения (овощи, корнеплоды, зелень, фрукты) [2, 23].

По мнению А. В. Москалева и соавт., четко выраженной природной очаговости иерсиниоза на территории Республики Крым нет. Вместе с тем в большинстве административных районов выявлена циркуляция возбудителя кишечного иерсиниоза среди 10–20% мелких млекопитающих [17].

Из домашних животных бактерию *Y. enterocolitica* чаще выделяют от собак, свиней и крупного рогатого скота [1, 6, 9].

Согласно данным А. К. Бхуниа, основным носителем патогенных штаммов, вызывающих инфекционные заболевания у людей, являются свиньи (бактерии присутствуют как комменсалы). Патогенные *Y. enterocolitica* выделяют у 35–70% свинополовья [3]. Поэтому мясо

и мясные продукты являются источником инфекции для человека. Это связано со способностью иерсиний длительное время сохраняться в продуктах животного происхождения, размножаться при низких температурах, а также выживать в большом диапазоне условий обитания [7].

Широкое распространение, нетребовательность к среде обитания и трудоемкость в постановке диагноза сделали актуальной проблему кишечного иерсиниоза. Изучение распространения данного заболевания среди животных затруднено, так как в РФ болезнь не подлежит обязательному учету как самостоятельная нозологическая единица [6, 12, 21].

В техническом регламенте Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» нормировано содержание бактерий рода *Yersinia* в сухих овощах, картофеле и продуктах их переработки, изделиях из сырых овощей, овощей и фруктах нарезанных, бланшированных, в том числе замороженных, но при условии наличия неблагоприятной эпидситуации в регионе производства, обусловленной данными продуктами [22]. Однако многие литературные источники свидетельствуют о наличии *Y. enterocolitica* в мясе, молоке и продуктах их производства [3, 4, 8–10, 18, 19].

Выделение *Y. enterocolitica* связано с определенными трудностями. Часто возбудитель содержится в пробе в незначительных количествах, и только использование специальных методов позволяет исключить сопутствующую микрофлору. Это вынуждает исследователей применять различные схемы селективного обогащения [6].

В настоящее время исследования проб пищевых продуктов и кормов для животных проводят согласно ГОСТ ISO 10273-2013 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения условно-патогенной бактерии *Yersinia enterocolitica*», в соответствии с которым образец обогащают в селективной жидкой среде, затем пересевают на чашки с агаром, отбирают характерные колонии и проводят идентификацию микроорганизмов [4].

Согласно МУК 4.2.3019-12 «Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и федеральном уровнях», при проведении исследования необходимо использовать холодное обогащение. Для этого исследуемый материал вносят в одну из сред накопления и инкубируют в холодильнике при температуре (6 ± 2) °C в течение 2–15 сут с высевом на плотные питательные среды на 2–3, 5–7 и 10–15 сут. Посевы инкубируют при температуре (26 ± 2) °C в течение 24 ч и проводят их до получения первого положительного результата, но не дольше 15 сут [11].

Исходя из вышеизложенного, при проведении работы стояла задача оценить возможность применения дополнительного этапа холодного обогащения при температуре (6 ± 2) °C для снижения концентрации сопутствующей микрофлоры при проведении испытаний сырья животного происхождения согласно рекомендациям ГОСТ ISO 16140-2011.

В соответствии с современными требованиями, предъявляемыми к проведению испытаний, любое изменение в стандартной методике подлежит валидации. При сравнительном исследовании качественных методов оценивают относительную точность, относительную специфичность и относительную чувствительность метода [5].

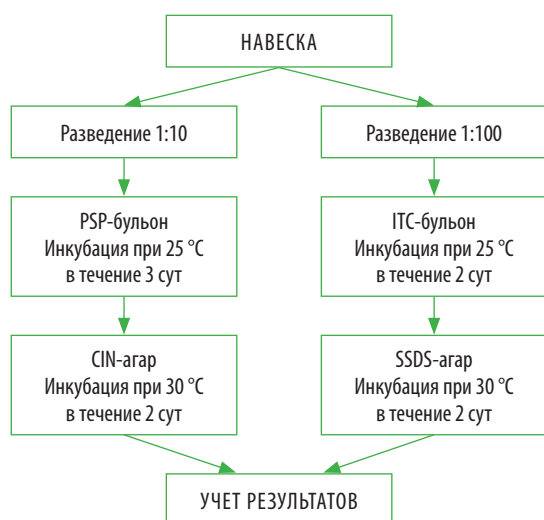


Рис. 1. Схема проведения исследований по ГОСТ ISO 10273-2013

Цель работы состояла в валидации методики по обнаружению бактерии *Y. enterocolitica* горизонтальным методом согласно ГОСТ ISO 10273-2013 для оценки ее пригодности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на базе лаборатории микробиологических исследований испытательного центра подведомственного Россельхознадзору ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных».

В качестве материала для искусственного заражения были выбраны образцы сырья и продукции животного происхождения, предварительно исследованные на наличие бактерий рода *Salmonella* и *Y. enterocolitica* по стандартным методикам с отрицательным результатом.

В работе использовали штамм *Y. enterocolitica* № 9610 ATCC и штамм *S. typhimurium* № 14028 ATCC.

При определении наличия бактерий *Y. enterocolitica* по ГОСТ ISO 10273-2013 использовали ИТС-бульон и PSB-

Таблица 1
Характер роста *Y. enterocolitica* № 9610 ATCC и *S. typhimurium* № 14028 ATCC на агаризованных средах

Штамм	CIN-агар	SSDS-агар
<i>Yersinia enterocolitica</i> № 9610 ATCC	Мелкие ровные колонии с красным центром	Мелкие прозрачные с кремовым оттенком колонии
<i>Salmonella typhimurium</i> № 14028 ATCC	Мелкие кремовые колонии с ровными краями и более темным центром	Мелкие бесцветные колонии с черным центром

бульон (HiMedia, Индия), пересев на плотные питательные среды проводили на селективный агар для иерсиний (CIN-агар, Merk, Германия), а также SSDS-агар для иерсиний (HiMedia, Индия) (рис. 1) [20].

Характер роста контрольных штаммов на используемых в опыте питательных средах представлен в таблице 1.

При проведении исследования в дополнение к стандартному методу было применено холодное обогащение по МУК 4.2.3019-12 «Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и федеральном уровнях» [22].

Валидацию проводили, руководствуясь ГОСТ ISO 16140-2011 «Микробиология продуктов питания и кормов для животных. Протокол валидации альтернативных методов».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Как было упомянуто выше, часто пищевые продукты загрязнены возбудителем в небольшом количестве и выделить его, исключив сопутствующую микрофлору, представляет определенную трудность.

Для того чтобы оценить, как влияет температура инкубации на этапе обогащения на рост сопутствующей микрофлоры и конечный результат исследования, проводили дополнительный посев навески продукта в жидкие питательные среды: ИТС-бульон и PSB-бульон с последующей инкубацией при температуре 4 °C. В дальнейшем исследование проводили согласно стандартной методике.

При проведении исследования пробу известной массы помещали в среды обогащения для получения разведений: 1:10 – на PSB-бульон и 1:100 – на ИТС-бульон. Отбирали по 10 см³ суспензии для каждого испытуемого образца и делили их на 4 группы:

I группа – инокулировали 0,5 см³ суспензии *Y. enterocolitica* с концентрацией 0,5 ед. по МакФарланду;

II группа – заражали в дозе 0,5 см³ суспензией *S. typhimurium* с концентрацией 0,5 ед. по МакФарланду;

III группа – вносили по 0,5 см³ суспензий *Y. enterocolitica* и *S. typhimurium* с концентрациями 0,5 ед. по МакФарланду;

IV группа – контрольная.

Дальнейшее исследование проводили по схеме, представленной на рисунке 2.

Образцы каждой из исследуемых групп инкубировали при температурах (4 ± 1) °C и (25 ± 1) °C в течение 48 ч для ИТС-бульона и 72 ч для PSB-бульона. Далее проводи-

Рис. 2. Схема проведения исследования

Красным цветом выделена предложенная модификация метода, синим – постановка по ГОСТ ISO 10273-2013.

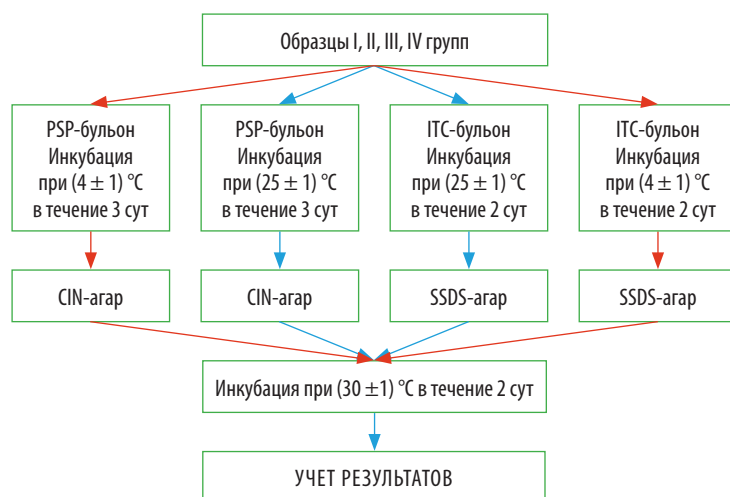


Таблица 2

Влияние температуры инкубации на рост *Y. enterocolitica* и *S. typhimurium*

n=3

Исследуемый материал	Среда обогащения	Температура инкубации, °C	Селективный агар	Результат
Суспензия продукта + <i>Y. enterocolitica</i> , I группа	ITC	4 ± 1	SSDC	Характерные колонии, (21 ± 6) КОЕ
	PSB	4 ± 1	CIN	Характерные колонии, (29 ± 4) КОЕ
	ITC	25 ± 1	SSDS	Характерные колонии, (189 ± 10) КОЕ
	PSB	25 ± 1	CIN	Характерные колонии, (156 ± 8) КОЕ
Суспензия продукта + <i>S. typhimurium</i> , II группа	ITC	4 ± 1	SSDS	Мелкие единичные колонии
	PSB	4 ± 1	CIN	Рост отсутствует
	ITC	25 ± 1	SSDS	Бесцветные колонии с черным центром, (148 ± 8) КОЕ
	PSB	25 ± 1	CIN	Мелкие кремовые колонии с ровными краями и более темным центром, (168 ± 10) КОЕ
Суспензия продукта + <i>Y. enterocolitica</i> + <i>S. typhimurium</i> , III группа	ITC	4 ± 1	SSDS	<i>Y. enterocolitica</i> – характерные колонии, (23 ± 3) КОЕ; <i>S. typhimurium</i> – рост отсутствует
	PSB	4 ± 1	CIN	<i>Y. enterocolitica</i> – характерные колонии, (28 ± 4) КОЕ; <i>S. typhimurium</i> – рост отсутствует
	ITC	25 ± 1	SSDS	<i>Y. enterocolitica</i> – (144 ± 7) КОЭ; <i>S. typhimurium</i> – (291 ± 8) КОЭ
	PSB	25 ± 1	CIN	<i>Y. enterocolitica</i> – (89 ± 4) КОЭ; <i>S. typhimurium</i> – (198 ± 12) КОЭ
Суспензия продукта без добавления исследуемых микроорганизмов, IV группа	ITC	4 ± 1	SSDS	Рост отсутствует
	PSB	4 ± 1	CIN	Рост отсутствует
	ITC	25 ± 1	SSDS	Рост отсутствует
	PSB	25 ± 1	CIN	Рост отсутствует

ли пересев на плотные питательные среды (CIN- и SSDS-агар) и инкубировали при температуре (30 ± 1) °C. Учет результатов проводили через 48 ч.

Результаты исследований представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, в группе I на всех чашках отмечается характерный для иерсиний рост. При температуре инкубации (4 ± 1) °C количество характерных колоний было в среднем в 7 раз меньше (21 ± 6 и 29 ± 4 КОЕ), чем при (25 ± 1) °C (189 ± 10 и 156 ± 8 КОЕ).

В группе II при температуре инкубации (4 ± 1) °C на чашках с SSDS-агаром отмечали рост мелких единичных колоний, а на чашках с CIN-агаром рост сальмонелл отсутствовал. При температуре инкубации (25 ± 1) °C

наблюдали хороший рост бактерий рода *Salmonella* на обоих агарах (148 ± 8 и 168 ± 10 КОЕ).

В группе III при температуре инкубации (4 ± 1) °C на чашках с SSDS- и CIN-агаром наблюдали рост характерных колоний *Y. enterocolitica* (23 ± 3 и 28 ± 4 КОЕ), в то время как рост бактерий рода сальмонелла отсутствовал. При температуре инкубации (25 ± 1) °C на чашках с SSDS- и CIN-агаром наблюдали характерный рост обоих штаммов, однако во всех случаях рост *S. typhimurium* (291 ± 8 и 198 ± 12 КОЕ) в 2 раза превысил рост *Y. enterocolitica* (144 ± 7 и 89 ± 4 КОЕ).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что, используя дополнительный этап инкубации при

Таблица 3

Результаты оценки специфичности валидируемой методики

Номер образца	Характеристика образца	Полученный результат
1	Фарш из свинины + <i>Y. enterocolitica</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
2	Свинина охлажденная + <i>S. typhimurium</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> отсутствуют в 25 г продукта
3	Свинина охлажденная + <i>Y. enterocolitica</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
4	Фарш из свинины + <i>S. typhimurium</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> отсутствуют в 25 г продукта
5	Фарш из свинины + <i>Y. enterocolitica</i> + <i>S. typhimurium</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
6	Фарш из свинины + <i>Y. enterocolitica</i> + <i>S. typhimurium</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
7	Колбаса ливерная + <i>Y. enterocolitica</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
8	Колбаса ливерная + <i>S. typhimurium</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> отсутствуют в 25 г продукта
9	Колбаса ливерная + <i>S. typhimurium</i> + <i>Y. enterocolitica</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
10	Колбаса ливерная	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> отсутствуют в 25 г продукта

Таблица 4
Результаты определения чувствительности валидируемой методики

Исходная концентрация суспензии <i>Y. enterocolitica</i> , КОЕ/см ³	Результат
1×10 ⁶	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1×10 ⁵	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1×10 ⁴	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1×10 ³	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1×10 ²	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1×10 ¹	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> не обнаружены

температуре (4 ± 1) °С при выполнении стандартной методики, можно полностью исключить рост не обладающих психрофильными свойствами микроорганизмов.

Оценка специфичности методики. Специфичность микробиологического метода характеризуется способностью определять целевой штамм в матрице образца в присутствии нецелевых штаммов микроорганизмов. Результаты испытаний представлены в таблице 3.

Из таблицы 3 следует, что присутствие нецелевого штамма и компоненты матрицы не влияют на результаты определения бактерий *Y. enterocolitica*. Таким образом, валидируемая методика является специфичной.

Определение чувствительности метода. Под чувствительностью микробиологического метода понимают минимальную концентрацию микроорганизмов, которую возможно выявить при использовании данного метода.

Для определения чувствительности валидируемой методики применяли метод 10-кратных разведений суспензии целевого штамма *Y. enterocolitica*, приго-

товленной на физиологическом растворе. Начальная концентрация суспензии составила 0,5 ед. по МакФарланду, что соответствует 1,0×10⁸ КОЕ/см³. Результаты испытаний представлены в таблице 4.

Таким образом, чувствительность метода составила 10 КОЕ/см³.

Определение повторяемости и внутрилабораторной сходимости. Валидационная характеристика повторяемости определяется при оценке результатов испытаний идентичных образцов в условиях повторяемости, а показатель внутрилабораторной сходимости оценивается при анализе результатов, полученных при исследовании одних и тех же образцов разными сотрудниками лаборатории (табл. 5).

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что повторяемость и внутрилабораторная воспроизводимость составляют 100%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате валидации предложенной методики установлено, что горизонтальный метод выявления бактерий *Y. enterocolitica* в пищевых продуктах животного происхождения согласно ГОСТ ISO 10273-2013, реализуемый в условиях лаборатории микробиологических исследований, является специфичным. Чувствительность метода составляет 10 КОЕ/см³. Внутрилабораторная воспроизводимость и повторяемость подтверждены соответствующими испытаниями. Применение дополнительного этапа инкубирования образцов при температуре (4 ± 1) °С позволяет полностью исключить рост микроорганизмов, не обладающих психрофильными свойствами.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бакулов И. А., Смирнов А. М., Васильев Д. А. Токсикоинфекции и токсикозы: учебное пособие. – Ульяновск: УГСХА, 2002. – 70 с.
- Бренева Н. В., Марамович А. С., Климов В. Т. Экологические закономерности существования патогенных иерсиний в почвенных экосистемах // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2005. – № 6. – С. 82–88.
- Бхуниа А. К. Патогенные микроорганизмы пищевых продуктов: пер. с англ. – СПб.: Профессия, 2014. – 342 с.
- ГОСТ ISO 10273-2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения условно-патогенной бактерии *Yersinia enterocolitica*. – М.: Стандартинформ, 2014. – 43 с.
- ГОСТ ISO 16140-2011. Микробиология продуктов питания и кормов для животных. Протокол валидации альтернативных методов. – М.: Стандартинформ, 2013. – 60 с.
- Диагностика иерсиниозов животных: учебное пособие / А. А. Шевченко, О. Ю. Черных, Л. В. Шевченко [и др.]. – Краснодар: КубГАУ, 2013. – 27 с.
- Киселева И. С. Мясо как фактор передачи инфекции при иерсиниозе: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2005. – 27 с.
- Кузнецов В. Г., Багрянцев В. Н. Пастеризованное молоко как фактор передачи возбудителей иерсиниозов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1992. – № 4. – С. 22–26.
- Макарова В. Н. Иерсиниоз свиней в условиях крупного сельскохозяйственного региона: эпизоотология, меры борьбы, лабораторное обеспечение эпизоотологического надзора: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Нижний Новгород, 2006. – 20 с.
- Микробиологический мониторинг иерсиний как основа санитарно-эпидемиологического надзора за иерсиниозами в организованных коллективах / А. Л. Панин, Л. А. Краева, В. Б. Сбойчаков [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2013. – Т. 3, № 3. – С. 217–228; DOI: 10.15789/2220-7619-2013-3-217-228.
- МУК 4.2.3019-12. Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и фе-

Таблица 5
Определение повторяемости и внутрилабораторной сходимости результатов при проведении валидируемой методики

Номер образца	Результаты, полученные первым сотрудником, первый/второй повтор			Результаты, полученные вторым сотрудником, первый/второй повтор		
	0	1	2	0	1	2
1	–/–	+/+	–/–	–/–	+/+	–/–
2	–/–	+/+	–/–	–/–	+/+	–/–
3	–/–	+/+	–/–	–/–	+/+	–/–
4	–/–	+/+	–/–	–/–	+/+	–/–
5	–/–	+/+	–/–	–/–	+/+	–/–
6	–/–	+/+	–/–	–/–	+/+	–/–
7	–/–	+/+	–/–	–/–	+/+	–/–
8	–/–	+/+	–/–	–/–	+/+	–/–
9	–/–	+/+	–/–	–/–	+/+	–/–
10	–/–	+/+	–/–	–/–	+/+	–/–

0 – матрица;

1 – матрица, зараженная целевым штаммом *Y. enterocolitica*;

2 – матрица, зараженная нецелевым штаммом *S. typhimurium*;

«+» – бактерии *Y. enterocolitica* обнаружены;

«–» – бактерии *Y. enterocolitica* не обнаружены.

деральном уровнях: методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. – 59 с.

12. Налепова М. Ю., Конев А. В., Трапезников С. В. Сравнительная оценка лабораторных методов индикации *Y. enterocolitica* от свиней // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2006. – № 3. – С. 35–38.

13. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2014 году: государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2015. – 206 с.

14. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2015 году: государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2016. – 200 с.

15. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году: государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017. – 200 с.

16. Смирнов И. В. Возбудитель иерсиниоза и близкие к нему микроорганизмы // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – Т. 6, № 1. – С. 10–21.

17. Современная характеристика активности природных очагов зоонозных инфекций Крыма / А. В. Москалев, П. В. Астапенко, В. Я. Апчел, О. Г. Цинцадзе // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2016. – № 3 (55). – С. 117–121.

18. СП 3.1.094-96, ВП 13.3.1318-96. Профилактика и борьба с различными болезнями, общими для человека и животных. Иерсиниозы: утв. Департаментом ветеринарии Минсельхозпрод РФ 18.06.96 № 23, Госкомсанэпиднадзор РФ 31.05.96 № 11. – М., 1996. – 9 с.

19. СП 3.1.7.2615-10. Профилактика иерсиниоза: санитарно-эпидемиологические правила. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – 19 с.

20. Спиряхина Т. В. Сравнительное изучение штаммов *Yersinia enterocolitica* различного происхождения: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2006. – 23 с.

21. Ткаченко Л. И., Ртищева Л. В., Киселева Т. Ф. Диагностика иерсиниоза в амбулаторных условиях // Инфекции, обусловленные иерсиниозом: материалы II Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – СПб.: НИИЭМ им. Пастера, 2006. – С. 132–134.

22. ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции: утв. решением комиссии Таможенного союза 09.12.2011 № 880. – 218 с.

23. Шустрова Н. М., Мисуренко Е. Н., Литвин В. Ю. О возможности передачи *Yersinia pseudotuberculosis* по цепочке почва–растение–животное // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1992. – № 4. – С. 10–12.

24. Энтеробактерии (руководство для врачей) / И. В. Голубева, В. А. Килессо, Б. С. Киселева [и др.]; под ред. В. И. Покровского. – М.: Медицина, 1985. – 320 с.

REFERENCES

1. Bakulov I. A., Smirnov A. M., Vasiliev D. A. Toxic infections and toxicoses: study guide [Toksikoinfekcii i toksikozy: uchebnoe posobie]. Ulianovsk: USAA, 2002 (in Russian).

2. Breneva N. V., Maramovich A. S., Klimov V. T. Ecological patterns of pathogenic *Yersinia* prevalence in soil ecosystems [Ekologicheskie zakonomernosti sushchestvovaniya patogennykh iersinij v pochvennykh ekosistemah]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology* [Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii]. 2005; 6: 82–88 (in Russian).

3. Bhunia A. K. Foodborne Microbial Pathogens: translated from English. SPb.: Professia, 2014 (in Russian).

4. GOST ISO 10273-2013. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica* [Mikrobiologiya pishchevykh produktov i kormov dlya zhivotnykh. Gorizontaľnyj metod obnaruzheniya uslovno-patogennoj bakterii *Yersinia enterocolitica*]. M.: Standartinform, 2014 (in Russian).

5. GOST ISO 16140-2011. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Protocol for the validation of alternative methods [Mikrobiologiya produktov pitaniya i kormov dlya zhivotnykh. Protokol validacii al'ternativnykh metodov]. M.: Standartinform, 2013 (in Russian).

6. Diagnostics of animal yersiniosis: study guide [Diagnostika iersiniozov zhivotnykh: uchebnoe posobie]. A. A. Shevchenko, O. Yu. Chernykh, L. V. Shevchenko [et al.]. Krasnodar: KubSAU, 2013 (in Russian).

7. Kiseleva I. S. Meat as a factor of yersiniosis infection transmission [Myaso kak faktor peredachi infekcii pri iersinioze]: author's abstract Thesis of Candidate of Sciences (Biology). Saratov, 2005 (in Russian).

8. Kuznetsov V. G., Bagryantsev V. N. Pasteurized milk as a factor of yersiniosis agent transmission [Pasterizovannoe moloko kak faktor peredachi vozбудitelej iersiniozov]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology* [Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii]. 1992; 4: 22–26 (in Russian).

9. Makarova V. N. Pig yersiniosis in large agricultural regions: epizootology, control measures, laboratory testing within epizootological surveillance [Iersinioz svinej v usloviyah krupnogo sel'skhozjaystvennogo regiona: epizootologiya, mery bor'by, laboratornoe obespechenie epizootologicheskogo nadzora]: author's abstract Thesis of Candidate of Sciences (Veterinary Medicine). Nizhny Novgorod, 2006 (in Russian).

10. Microbiological monitoring of *Yersinia* as a basis for sanitary and epidemiological surveillance of yersiniosis in organized groups of people [Mikrobiologicheskij monitoring iersinij kak osnova sanitarno-epidemiologicheskogo nadzora za iersiniozami v organizovannykh kolektivah]. A. L. Panin, L. A. Krayeva, V. B. Sboychakov [et al.]. *Russian Journal of Infection and Immunity* [Infektsiya i immunitet]. 2013; 3 (3): 217–228; DOI: 10.15789/2220-7619-2013-3-217-228 (in Russian).

11. MG 4.2.3019-12. Organization and performance of laboratory tests for yersiniosis on territorial, regional and federal levels: methodical guidelines [Organizaciya i provedenie laboratornykh issledovanij na iersiniozy na territorial'nom, regional'nom i federal'nom urovnyah: metodicheskie ukazaniya]. M.: Rosпотребнадзор Federal Centre for Hygiene and Epidemiology, 2012 (in Russian).

12. Nalepova M. Yu., Konev A. V., Trapeznikov S. V. Comparative assessment of *Y. enterocolitica* laboratory identification methods in pigs [Sravnitel'naya ocenka laboratornykh metodov indikacii *Y. enterocolitica* ot svinej]. *Veterinariya sel'skhozjaystvennykh zhivotnykh*. 2006; 3: 35–38 (in Russian).

13. Public Health and Hygiene in the Russian Federation in 2014: state report [O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossijskoj Federacii v 2014 godu: gosudarstvennyj doklad]. M.: Federal Service for Consumer Rights and Human Welfare Protection, 2015 (in Russian).

14. Public Health and Hygiene in the Russian Federation in 2015: state report [O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossijskoj Federacii v 2015 godu: gosudarstvennyj doklad]. M.: Federal Service for Consumer Rights and Human Welfare Protection, 2016 (in Russian).

15. Public Health and Hygiene in the Russian Federation in 2016: state report [O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossijskoj Federacii v 2016 godu: gosudarstvennyj doklad]. M.: Federal Service for Consumer Rights and Human Welfare Protection, 2017 (in Russian).

16. Smirnov I. V. *Yersinia* agent and related microorganisms [Vozбудitel' iersinioza i blizkie k nemu mikroorganizmy]. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2004; 6 (1): 10–21 (in Russian).

17. Current characteristics of zoonotic infection natural niduses activity in Crimea [Sovremennaya harakteristika aktivnosti prirodnykh ochagov zoonoznykh infekcij Kryma]. A. V. Moskaev, P. V. Astapenko, V. Ya. Apchel, O. G. Tsintsadze. *Vestnik rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii*. 2016; 3 (55): 117–121 (in Russian).

18. СП 3.1.094-96, ВП 13.3.1318-96. Prevention and control of infectious diseases, common for humans and animals. Yersiniosis [Profilaktika i bor'ba s zaraznymi boleznyami, obshchimi dlya cheloveka i zhivotnykh. Iersiniozy]: approved by Veterinary Department of the RF Ministry of Agriculture and Food 18.06.96 No. 23. State Committee on Sanitary and Epidemiology Surveillance 31.05.96 No. 11. M., 1996 (in Russian).

19. СП 3.1.7.2615-10. Yersiniosis prevention: sanitary and epidemiological rules [Profilaktika iersinioza: sanitarno-epidemiologicheskie pravila]. M.: Rosпотребнадзор Federal Centre for Hygiene and Epidemiology, 2010 (in Russian).

20. Spirakhina T. V. Comparative study of *Yersinia enterocolitica* strains of different origin [Sravnitel'noe izuchenie shtammov *Yersinia enterocolitica* razlichnogo proiskhozhdeniya]: author's abstract Thesis of candidate of sciences (Biology). Saratov, 2006 (in Russian).

21. Tkachenko L. I., Rtischeva L. V., Kiseleva T. F. Yersiniosis diagnostics in clinics [Diagnostika iersinioza v ambulatornykh usloviyah]. *Yersinia related infections: proceedings of II All Russian scientific and practical conference with participation of foreign specialists*. SPb.: Saint-Petersburg Pasteur Institute, 2006; 132–134 (in Russian).

22. ТР CU 021/2011. Food safety: approved by Customs Union Commission on 09.12.2011 No. 880.

23. Shustrova N. M., Misurenko Ye. N., Litvin V. Yu. Potential of *Yersinia pseudotuberculosis* transmission along soil–plant–animal chain [O vozmozhnosti peredachi *Yersinia pseudotuberculosis* po cepochke pochva–rastenie–zhivotnoe]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology* [Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii]. 1992; 4: 10–12 (in Russian).

24. Enterobacteria (Doctor's guide) [Enterobakterii (rukovodstvo dlya vrachej)]. I. V. Golubeva, V. A. Kileso, B. S. Kiseleva [et al.]; ed. by V. I. Pokrovsky. M.: Meditsina, 1985 (in Russian).

Поступила 12.02.19
Принята в печать 26.05.19

РЕЦЕНЗИЯ

НА МОНОГРАФИЮ В. С. РУСАЛЕЕВА, О. В. ПРУНТОВОЙ, Д. А. ЛОЗОВОГО

«АКТИНОБАЦИЛЛЕЗНАЯ ПЛЕВРОПНЕВМОНИЯ СВИНЕЙ». –

ВЛАДИМИР: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2018. – 134 С.: ИЛ.

ISBN 978-5-900026-63-3

С. П. Еремин

Заведующий кафедрой «Частная зоотехния, разведение с/х животных и акушерство» ФГБОУ ВО «Нижегородская ГСХА», доктор ветеринарных наук, профессор

PEER-REVIEW

OF MONOGRAPH OF V. S. RUSALEYEV, O. V. PRUNTOVA, D. A. LOZOVY

“*ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* IN PIGS”. –

VLADIMIR: FGBI “ARRIAH”, 2018. – 134 P.: IL.

ISBN 978-5-900026-63-3

S. P. Yeremin

Head of Chair “Private Zootechnics, Farm Animal Breeding and Obstetrics” FGBEI HE Nizhny Novgorod SAA, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor

Актинобациллезная плевропневмония свиней – это широко распространенное инфекционное контагиозное заболевание, характеризующееся септикотоксемией, геморрагической, фибринозно-геморрагической и гнойно-некротизирующей пневмонией, а также серозно-фибринозным плевритом, перикардитом и артритом, возбудителем является бактерия *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Экономический ущерб от этой инфекции складывается из затрат от падежа и вынужденного убоя, снижения продуктивности животных, качества получаемой продукции, затрат, связанных с проведением профилактических и оздоровительных мероприятий. Ежегодно страны Евросоюза тратят один миллиард евро на проведение лечебно-профилактических мероприятий в борьбе с данным заболеванием.

Впервые актинобациллезная плевропневмония свиней была зарегистрирована в свиноводческих хозяйствах Великобритании, США, Швейцарии и Аргентины в период с 1957 по 1964 г., а возбудитель болезни выделен в 1963 г. В России возбудитель актинобациллезной плевропневмонии свиней впервые был выделен М. А. Сидоровым и Д. И. Скородумовым в 1977 г.

Несмотря на это, до сих пор в доступной научной литературе не было работы, обобщающей достижения отечественных и зарубежных исследователей в области изучения актинобацилл и актинобациллезной плевропневмонии свиней за последние годы.

В рецензируемой монографии широко освещены биологические свойства актинобацилл, описаны процессы патогенеза, клинические признаки и патолого-анатомические изменения у свиней при актинобациллезной плевропневмонии, представлены современные инструментальные методы, применяемые для изучения актинобацилл, методы диагностики заболевания, рекомендации по лечению и специфической профилактике данной болезни.

Ценность монографии заключается в том, что в нее включены собственные исследования авторов, которые, являясь научными сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ», одними из первых в РФ получили изоляты возбудителя болезни, изучили их свойства, разработали тест-системы для выявления антигенов и антител *A. pleuropneumoniae* и вакцинные препараты для профилактики актинобациллезной плевропневмонии.

Монография предназначена для ветеринарных врачей, научных сотрудников, лабораторных сотрудников и других специалистов, работающих с возбудителями бактериальных инфекций свиней, а также преподавателей вузов и студентов.

Работа изложена на высоком научном и методическом уровне, представляет несомненный научный и практический интерес.

ПАМЯТИ выдающегося ученого, ветеринарного врача и педагога ВАЛЕРИЯ ПЕТРОВИЧА УРБАНА

Валерий Петрович Урбан (1918–2001) – доктор ветеринарных наук, профессор, академик ВАСХНИЛ и РАСХН, заслуженный деятель науки РФ, почетный профессор ряда ветеринарных вузов страны, заведующий кафедрой эпизоотологии Ленинградского ветеринарного института (Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины), носящей сейчас его имя, крупный советский и российский ученый-эпизоотолог, научный руководитель и организатор отечественной ветеринарии, педагог.

Профессиональная деятельность В. П. Урбана основывалась на опыте и знаниях, приобретенных в должности ветеринарного врача в довоенное время и период армейской практики. Заслуженный в эти периоды авторитет и стремление к профессиональному росту стали основанием для рекомендации его в аспирантуру Ленинградского ветеринарного института, где он целиком посвятил себя научной работе и преподаванию, стал кандидатом, доктором ветеринарных наук, профессором, возглавил ведущую кафедру.

Среди многих аспектов активной деятельности В. П. Урбана в науке особого внимания заслуживают его взгляды на эволюцию эпизоотической обстановки в связи с изменениями, происходившими в стране. Безусловные успехи ветеринарной науки и практики в управлении острыми эпизоотическими инфекциями с помощью систематической вакцинации возвели активную специфическую профилактику в разряд универсального, культового безальтернативного мероприятия. В результате чего вакцинация была возведена в ранг безотказной панацеи. Это привело к возникновению принципиально нового эпизоотологического явления – *вакцинозависимости* целых отраслей животноводства: по классической чуме в свиноводстве, ньюкастской болезни в птицеводстве, чуме плотоядных в звероводстве, даже по сапронозам типа лептоспироза. В результате относительного благополучия по этим и другим острым управляемым инфекциям в стране на первое место вышли, заполнив «эпизоотический вакуум», *хронические инфекции*. Сформировалась особая эпизоотологическая категория, которую составили, прежде всего, туберкулез, бруцеллез и лейкоз КРС. В. П. Урбан первым предостерег против безоглядной вакцинации, заявив: «Входить» с вакциной в хозяйство мы научились легко, а вот как «выходить» – никто не знает».

В середине 1960-х гг. коренная реконструкция животноводства с переводом на индустриальную основу, вызвавшая создание крупных промышленных комплексов по производству говядины, молока, свинины, спровоцировала возникновение и широкое распространение принципиально новой массовой патологии – болезней промышленного животноводства, или так называемых *факторных болезней*. Основными и типичными представителями факторной инфекционной патологии условно-патогенной (эндогенной) природы являются гнойно-воспалительные инфекции послеродового периода (эндометриты и маститы) и болезни молодняка (парагрипп-3, инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея телят, пастереллезы, корона- и ротавирусные инфекции, отечная болезнь поросят и другие колибактериозы). Попытки индустриализации овцеводства в 1970-х гг. породили проблему *медленных инфекций*, неизвестных ранее отечественной ветеринарии. Валерий Петрович одним из первых не только осознал, что истинная



На могиле В. П. Урбана в Санкт-Петербурге (2017 г.)

Слева направо: профессор В. А. Кузьмин (СПбГАВМ), академик М. И. Гулюкин (ВИЭВ), доцент В. Г. Урбан (СПбГАВМ), профессор В. В. Макаров (РУДН).

причина таких болезней кроется в интенсификации животноводства, непродуманных техногенных вмешательствах, но и сказал об этом открыто, кроме того, дал рекомендации по выходу из сложившегося положения в журнале «Сельскохозяйственная биология» (№10, 1983 г.).

В последних публикациях В. П. Урбана «О проблемах эпизоотологии» (в соавторстве с нами, «Ветеринарная газета», № 4, 2001 г.) и «Эпизоотология и эпидемиология требуют развития и сближения» («Ветеринарная газета», № 10, 2001 г.) нашли отражение его прогрессивные воззрения на необходимость экологизации отечественной эпизоотологии, заставшей на уровне довоенных догматов «учения о механизме передачи инфекции», в которые не укладываются факторная природа основных на сегодня массовых заболеваний животных, доктрина саморегуляции паразитарных систем, эмерджентность и эмерджентные инфекции, а также многие другие определяющие элементы инфекционной патологии. В этих публикациях, исключительно актуальных, особенно в сфере высшего профессионального образования, предложены решения по совершенствованию эпизоотологии как учебной дисциплины в содержательном (современные достижения и знания, радикально изменившиеся применительно к отдельным нозоединицам), научно-организационном и методическом отношении, гармонизации эпизоотологической науки, практики и образования как с требованиями неуклонного прогресса в биологии и ветеринарии, так и с мировыми достижениями и тенденциями в этой области.

Авторам посчастливилось общаться лично с Валерием Петровичем на многочисленных научных мероприятиях по всей стране, тесно сотрудничать, быть единомышленниками, готовить совместные публикации и вести полемику. Очень жаль, что при таком прогрессивном подходе к эпизоотологии В. П. Урбану не удалось довести начатое дело до конца...

В. В. Макаров, В. В. Сочнев



Продовольственная и сельскохозяйственная
организация ООН (ФАО)

ПРЕСС-РЕЛИЗ

ПРОЕКТ ПО УПРАВЛЕНИЮ ЖИЗНЕННЫМ ЦИКЛОМ ПЕСТИЦИДОВ И УТИЛИЗАЦИИ ПЕСТИЦИДОВ, ОТНОСИМЫХ К ЧИСЛУ СТОЙКИХ ОРГАНИЧЕСКИХ ЗАГРЯЗНИТЕЛЕЙ (СОЗ)

ЦЕЛЬ ПРОЕКТА – СНИЗИТЬ ЗАГРЯЗНЕНИЕ И ОБЕСПЕЧИТЬ НАДЛЕЖАЩЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПЕСТИЦИДОВ



Фото: ©ФАО/Вячеслав Оселедко

**24 апреля 2019 года,
Бишкек, Киргизская Республика**

Согласно оценкам, в мире почти половина вышедших из употребления пестицидов находится на территории бывшего Советского Союза, причем больше всего хранилищ расположено в Центральной Азии. В связи с тем, что этот субрегион был важным сельскохозяйственным центром, в особенности по производству хлопка, в нем использовалось большое количество пестицидов. В наследие с тех времен остались необорудованные должным образом места захоронения и многие административные и управленческие проблемы.

Прошедший 24 апреля в Бишкеке однодневный семинар – часть обширной программы ФАО по устранению этих недостатков, он положит начало серии семинаров в Азербайджане, Казахстане, Киргизии, Таджикистане и Турции. Проект по управлению жизненным циклом пестицидов и утилизации пестицидов, относимых к числу стойких органических загрязнителей (СОЗ), осуществляется при поддержке Глобального экологического фонда.

Целью этого четырехлетнего проекта является сокращение к его окончанию утечек СОЗ из загрязненных объектов и хранилищ вышедших из употребления пестицидов, а также освоение странами других методов рациональной борьбы с вредителями и обращения с пестицидами. «Когда мы говорим о борьбе с вреди-

телями и обращении с пестицидами, мы имеем в виду не только производство сельскохозяйственных культур или продуктивность, но и воздействие вредителей и пестицидов на мелкие фермерские хозяйства, рынки, торговлю и природные ресурсы, – заявила Таня Сантиванез, специалист ФАО по сельскому хозяйству, – а следовательно, об их воздействии на всю продовольственную систему, влияющем на наличие и доступность здоровой пищи».

Серьезными проблемами, общими для стран Центральной Азии, мало знакомых с нормативными и техническими требованиями, такими как спецификации ФАО, являются вопросы регистрации пестицидов и оценки рисков. Это становится причиной крайне слабого информирования пользователей об имеющихся опасностях. Мониторинг использования пестицидов в этом районе практически не осуществляется, отсутствуют механизмы надзора за соблюдением нормативных требований, например, по дерегулированию или перерегистрации.

В то же время в результате изменения климата и интенсификации производства увеличилось количество вредителей и заболеваний сельскохозяйственных культур. Согласно оценкам, ежегодные потери, вызываемые насекомыми, сорняками и болезнями, составляют 20–40%. Хотя пестициды играют важную роль в сокращении потерь урожая, при неправильном использовании они могут оказывать негативное воздействие на здоровье человека и окружающую среду.

«Путем реализации данного проекта ФАО стремится способствовать расширению успешного применения альтернативных решений, пропагандирующих комплексную борьбу с вредителями и применение агроэкологических подходов к выращиванию основных культур в духе устойчивого ведения сельского хозяйства», – сказала Сантиванез.

Для проведения данной работы будут задействованы партнеры из правительственных структур, частного сектора и гражданского общества, которые приобретут разнообразные навыки, необходимые для ведения различных видов деятельности и использования уже существующих ресурсов, сетей и каналов коммуникации.

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: **3000–6000 слов**.

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, ORCID ID.
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. Для статей – 10–15 источников, для обзоров – не более 25–35 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

**ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)
ПРОИЗВОДИТ ЭМБРИОН-ВАКЦИНУ
ПРОТИВ ОСПЫ ПТИЦ ИЗ ШТАММА «КЭМ-7»
С РАЗБАВИТЕЛЕМ «ВАКСИПОКС»**

Эмбрион-вакцина «ВАКСИПОКС» предназначена для специфической профилактики оспы птиц в неблагополучных и угрожаемых по данному заболеванию птицеводческих хозяйствах. Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у кур против оспы птиц через 14 суток после однократного применения продолжительностью не менее 12 месяцев.

Запрещено прививать клинически больную и/или ослабленную птицу.

Не рекомендуется проводить вакцинацию птиц менее чем за 14 суток до предполагаемого начала яйцекладки.



Вакцинации подлежат клинически здоровые куры в возрасте старше 25 суток. Эмбрион-вакцину применяют однократно методом внутрикожной инъекции в перепонку крыла с помощью игольного инъектора перфорирующего типа.

При работе с эмбрион-вакциной следует соблюдать общие правила личной гигиены и техники безопасности, предусмотренные при работе с лекарственными средствами ветеринарного назначения.

В птицеводческих хозяйствах эмбрион-вакцина зарекомендовала себя как надежный и безвредный препарат, защищающий вакцинированное поголовье от клинического проявления оспы птиц, не вызывающий каких-либо поствакцинальных осложнений.

**По вопросам приобретения ветеринарных препаратов производства
ФГБУ «ВНИИЗЖ» необходимо обращаться по телефонам:**

8 (4922) 52-99-24, (4922) 26-15-25