



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



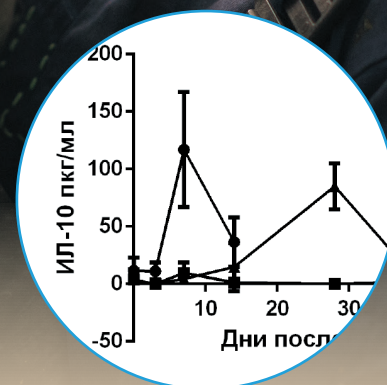
**ВИРУС АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ:
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
МАРКЕРОВ ПРИ АНАЛИЗЕ ПУТЕЙ
ЕГО РАСПРОСТРАНЕНИЯ**
с. 3

**AFRICAN SWINE FEVER VIRUS:
USE OF GENETIC MARKERS
IN ANALYSIS OF ITS ROUTES OF SPREAD**
p. 9



**КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ
И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ
У СВИНОМАТОК ДО ОПОРОСА
И В ПЕРИОД ЛАКТАЦИИ**
с. 15

**CELLULAR IMMUNITY AND
CYTOKINE PROFILE IN PRE-FARROW
AND LACTATING SOWS**
p. 19



**ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННО
ВИРУЛЕНТНОГО ВИРУСА АЧС
НА ПРОДУКЦИЮ
ИНТЕРЛЕЙКИНА-10**
с. 23

**EFFECTS OF MODERATELY
VIRULENT AFRICAN SWINE FEVER
VIRUS ON INTERLEUKIN-10
PRODUCTION**
p. 23

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, СЕНТЯБРЬ №3 {30} 2019
VETERINARY SCIENCE TODAY, SEPTEMBER №3 {30} 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 — доктор 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 — Doctor 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 Lavruhina, 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

Кузьминова 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-ВНИВИ», 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

Mishchenko 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) и каталог журналов открытого доступа DOAJ. Электронные версии журнала размещаются в полнотекстовом формате на сайте Научной электронной библиотеки eLIBRARY.RU, в каталоге DOAJ и по адресу <http://veterinary.arriah.ru/jour/index>. Зарегистрированный товарный знак, свидетельство № 514190.

Scientific Journal "Veterinary Science Today" is included in the information analysis system — Russian Science Citation Index (RSCI) and Directory of Open Access Journals (DOAJ). Full-text e-versions of the Journal are published on the website of the Scientific Electronic Library, eLIBRARY.RU, DOAJ, and <http://veterinary.arriah.ru/jour/index>. Registered trademark, certificate No 514190.

Редакционная коллегия журнала «Ветеринария сегодня»:

Editorial Board:



Василевич Ф. И. — доктор биологических наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы 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, K. I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow



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

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



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

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



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

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



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

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



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

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



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

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



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

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



Метлин А. Е. — доктор ветеринарных наук, заместитель директора по науке ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва

Metlin A. Ye. — Doctor of Science (Veterinary Medicine), Deputy Head for Research, FGBI "VGNKI", Moscow



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

Mishchenko 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

Russaleev 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 РАН, ФГБНУ «ВНИИПФит», г. Воронеж

Shakhov A. G. — Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, FGBNU VNIVIPAT, 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 Хорошевская, д. 18, корп. 1

Подписано в печать 23 сентября 2019 года
Дата выхода 27.09.2019

Printing Office:

ООО "Poligraficheskyy Komplex", 123298 Moscow, 3-ya Khoroshevskaya ul. 18, build. 1

Approved for print 23 september 2019
Issued: 27.09.2019

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

- 3 А. Мазлум, А. С. Иголкин, Н. Н. Власова, Д. В. Роменская
ВИРУС АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ
МАРКЕРОВ ПРИ АНАЛИЗЕ ПУТЕЙ ЕГО РАСПРОСТРАНЕНИЯ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

- 15 А. Г. Шахов, С. В. Шабунин, Л. Ю. Сашнина, М. И. Адодина,
М. Ю. Жейнес, К. В. Тараканова, К. О. Копытина
КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ
У СВИНОМАТОК ДО ОПОРОСА И В ПЕРИОД ЛАКТАЦИИ

- 23 А. С. Першин, И. В. Шевченко, А. С. Иголкин,
Е. В. Аронова, Н. Н. Власова
ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННО ВИРУЛЕНТНОГО ВИРУСА АЧС
НА ПРОДУКЦИЮ ИНТЕРЛЕЙКИНА-10

- 29 М. В. Бирюченкова, А. М. Тимина, А. В. Щербakov
ОБНАРУЖЕНИЕ ЦИРКОВИРУСА ТРЕТЬЕГО ТИПА
В СВИНОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ РОССИИ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

- 34 N. M. Bogas, A. V. Sherasiya, J. C. Simões
СОПУТСТВУЮЩИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ
СТЕЛЬНОСТИ И ПЕРИНАТАЛЬНУЮ СМЕРТНОСТЬ У КОРОВ
ГОЛШТИНО-ФРИЗСКОЙ ПОРОДЫ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ЭПИЗООТОЛОГИЯ

- 39 В. П. Семакина, Т. П. Акимова, А. К. Караулов
ПОКАЗАТЕЛИ ЭПИЗООТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ ЯЩУРЕ В РОССИИ
В ПЕРИОД С 2010 ПО I КВАРТАЛ 2019 Г.

- 45 Н. С. Бардина, А. В. Варкентин, А. К. Караулов
ОБЗОР ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ ПО НЕКОТОРЫМ ИНФЕКЦИОННЫМ
БОЛЕЗНЯМ ЖИВОТНЫХ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В 2018 Г.

- 51 М. С. Волков, А. В. Варкентин, В. Н. Ирза
О РАСПРОСТРАНЕНИИ ВИРУСА НИЗКОПАТОГЕННОГО ГРИППА А/Н9Н2
В МИРЕ И НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ.
ПРОБЛЕМЫ ИСКОРЕНЕНИЯ БОЛЕЗНИ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

- 57 В. А. Калашникова
МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТИПИРОВАНИЕ МЕТИЦИЛЛИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MSSA), ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ ОБЕЗЬЯН,
НА ОСНОВЕ ПОЛИМОРФИЗМА КОАГУЛАЗНОГО ГЕНА

- 63 М. С. Фирсова, В. А. Евграфова, А. В. Потехин
ОСОБЕННОСТИ ИНАКТИВАЦИИ БАКТЕРИЙ *AVIBACTERIUM*
PARAGALLINARUM ФОРМАЛЬДЕГИДОМ И ТИОМЕРСАЛОМ

НОВОСТИ

- 68 ПРЕСС-РЕЛИЗ ФАО: «ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР ФАО ГРАЦИАНО ДА СИЛВА
ПЕРЕДАЕТ ПОЛНОМОЧИЯ ЦЮЙ ДУНЬЮЮ»

CONTENTS

REVIEWS | PORCINE DISEASES

- 9 Ali Mazloum, A. S. Igolkin, N. N. Vlasova, D. V. Romenskaya
AFRICAN SWINE FEVER VIRUS: USE OF GENETIC MARKERS
IN ANALYSIS OF ITS ROUTES OF SPREAD

ORIGINAL ARTICLES | PORCINE DISEASES

- 19 A. G. Shakhov, S. V. Shabunin, L. Yu. Sashnina, M. I. Adodina,
M. Yu. Zhejnes, K. V. Tarakanova, K. O. Kopytina
CELLULAR IMMUNITY AND CYTOKINE PROFILE IN PRE-FARROW
AND LACTATING SOWS

- 23 A. S. Pershin, I. V. Shevchenko, A. S. Igolkin, Ye. V. Aronova, N. N. Vlasova
EFFECTS OF MODERATELY VIRULENT AFRICAN SWINE FEVER VIRUS
ON INTERLEUKIN-10 PRODUCTION

- 29 M. V. Biryuchenkova, A. M. Timina, A. V. Shcherbakov
DETECTION OF PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 3 IN RUSSIAN PIG HOLDINGS

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 34 N. M. Bogas, A. V. Sherasiya, J. C. Simões
CONCOMITANT FACTORS AFFECTING GESTATION LENGTH
AND PERINATAL MORTALITY IN HOLSTEIN-FRIESIAN COWS

ORIGINAL ARTICLES | EPIZOOTOLOGY

- 39 V. P. Semakina, T. P. Akimova, A. K. Karaulov
FMD EPIDEMIC PROCESS CHARACTERISTICS IN RUSSIA IN 2010 –
FIRST QUARTER OF 2019

- 45 N. S. Bardina, A. V. Varkentin, A. K. Karaulov
OVERVIEW OF THE EPIDEMIC SITUATION ON CERTAIN INFECTIOUS ANIMAL
DISEASES IN THE RUSSIAN FEDERATION IN 2018

- 51 M. S. Volkov, A. V. Varkentin, V. N. Irza
SPREAD OF LOW PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA A/H9N2 IN THE WORLD
AND RUSSIAN FEDERATION. CHALLENGES OF DISEASE ERADICATION

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 57 V. A. Kalashnikova
MOLECULAR TYPING OF METHICILLIN-SUSCEPTIBLE
STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MSSA), ISOLATED FROM MONKEYS,
BASED ON COAGULASE GENE POLYMORPHISM

- 63 M. S. Firsova, V. A. Yevgrafova, A. V. Potekhin
SPECIFIC ASPECTS OF *AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM* INACTIVATION
WITH FORMALDEHYDE AND THIOMERSAL

NEWS

- 68 FAO PRESS RELEASE “FAO DIRECTOR-GENERAL GRAZIANO DA SILVA
HANDS OVER HELM TO QU DONGYU WITH CALL TO IMPROVE ACCESS
TO QUALITY FOOD FOR ALL”

ВИРУС АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ: ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ПРИ АНАЛИЗЕ ПУТЕЙ ЕГО РАСПРОСТРАНЕНИЯ

Али Мазлум¹, А. С. Иголкин², Н. Н. Власова³, Д. В. Роменская⁴

¹ Биолог, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: ali.mazloum6@gmail.com; ORCID ID 0000-0002-5982-8393

² Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: igolkin_as@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5438-8026

³ Главный научный сотрудник, доктор биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-8707-7710

⁴ Заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: romenskaya@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-2443-1898

РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день эффективных мер специфической профилактики и лечения африканской чумы свиней не разработано. Стратегия борьбы с болезнью направлена на быструю диагностику инфицированных животных с последующим убоем и дезинфекционными мероприятиями (стемпинг аут). В настоящем обзоре представлена современная эпизоотическая ситуация по африканской чуме свиней, рассмотрены особенности генетической организации вируса и принципы генетической дифференциации изолятов. Российская Федерация неблагополучна по африканской чуме свиней с 2007 года. С этого времени заболевание является одной из ключевых проблем свиноводческой отрасли нашей страны, нанося огромный прямой и косвенный экономический ущерб. Болезнь продолжает неумолимо распространяться. Так, в январе 2014 года африканская чума свиней была занесена на территорию Литвы, позднее охватила Польшу, Латвию, Эстонию, Румынию, Венгрию, Бельгию, Молдову, а с 2018 года вспышки болезни регистрировали уже и в Азии (Китай, Вьетнам, Монголия). Особая структура вируса, длинный нерасшифрованный геном, включая гены с неизвестной функцией, а также циркуляция 24 генотипов и 9 серотипов вируса являются причиной отсутствия эффективной вакцины против африканской чумы свиней. Показано, что использование большого количества специфических генетических маркеров при определении родства и изучении путей распространения вируса африканской чумы свиней в мире является наиболее точным методом.

Ключевые слова: африканская чума свиней, структура генома вируса, генетические маркеры.

СОВРЕМЕННАЯ ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ

Африканская чума свиней (АЧС) является особо опасной геморрагической вирусной болезнью, уведомление о которой в МЭБ является обязательным вследствие высокой смертности зараженных животных, масштабы распространения и существенного санитарного и социально-экономического влияния на развитие свиноводства как отрасли и международную торговлю его продукцией [8].

Причиной болезни является единственный представитель семейства *Asfarviridae* – ДНК-содержащий вирус АЧС.

Эпизоотия АЧС очень сложна и значительно варьирует по динамике и факторам распространения между

странами, регионами и континентами, демонстрируя различные сценарии своего развития.

До недавнего времени АЧС являлась эндемичной в странах Африки, к югу от Сахары [5], с очагами эпизоотий в Португалии, Испании (1957–1995 гг.) и на Сардинии (с 1978 г.). В сложившейся на данный момент ситуации в Европе важно отметить, что, начиная с единичного заноса вируса АЧС в Грузию из Восточной Африки в 2007 г., болезнь быстро распространилась по всему Кавказу и на тысячи километров на северо-запад Российской Федерации [2, 7], а также получила динамичное распространение в западном направлении в странах Европы (2014–2019 гг.) и Юго-Восточной Азии (2018–2019 гг.).

Эпизоотическая ситуация по АЧС в РФ, странах Европы и Азии, 2007 – 2019 гг. (по данным* на 12.08.2019)



Рис. 1. Эпизоотическая ситуация по АЧС в РФ, странах Европы и Азии в 2007–2019 гг. [3]

Клиническая картина АЧС, наблюдаемая у инфицированных животных в 2013–2015 гг. в странах ЕС, была характерна для острой формы течения болезни [13, 16]. Однако уже через год после появления АЧС на территории Европы исследователи выявили сероположительных диких кабанов, что предполагает наличие выживших животных, это было подтверждено в экспериментах *in vivo* [9, 17, 27].

Серьезность угрозы распространения АЧС подтверждается возникновением вспышек заболевания в Молдове, Чехии и Румынии в 2017 г., в Венгрии, Китае, Бельгии и Монголии в 2018 г., во Вьетнаме, Камбодже, Корейской Народно-Демократической Республике, Лаосской Народно-Демократической Республике и на территории Дальневосточного региона РФ (рис. 1) [3, 35].

Таким образом, в настоящее время АЧС представляет реальную угрозу для развития свиноводства не только из-за расширения границ распространения уже циркулирующего вируса, но также из-за риска его новой интродукции из эндемичных африканских стран, количество которых увеличивается.

При первичном попадании возбудителя АЧС в популяцию домашних свиней или кабанов наблюдается сверхострая, острая или подострая формы течения болезни с высокой летальностью до 95–100% (через 4–9 суток после инфицирования).

Однако длительная циркуляция вируса АЧС в дикой природе приводит к появлению ослабленных вариантов вируса, вызывающих хроническое или даже бессимптомное течение инфекции. При болезни, вызванной низковирулентным вирусом, клинические проявления АЧС более разнообразны или трудно распознаются. Возбудитель АЧС может находиться

в организме инфицированных животных в течение нескольких месяцев без проявления очевидных клинических признаков [10, 12].

В определенных условиях активную роль в распространении АЧС играют векторы-переносчики. Так, например, в странах Восточной и Южной Африки циркуляция вируса АЧС поддерживается на протяжении веков в силватическом цикле, включающем мягких клещей рода *Ornithodoros* и бессимптомно инфицированных диких африканских кистеухих свиней (*Potamochoerus porcus*) и бородавочников (*Phacochoerus* spp.). Силватический цикл вируса АЧС, сформировавшийся между клещами и дикими кабаном, может поддерживаться неопределенный срок, что позволяет осуществлять циркуляцию вируса и его сохранность в дикой природе, подерживая исходный вирус и создавая новые варианты.

Вакцины для профилактики АЧС не существуют. Применяемые меры контроля и ликвидации основаны на классических методах борьбы с болезнями, включая эпиднадзор, эпизоотологическое расследование, быструю диагностику инфицированных животных и применение политики стемпинг аут [11].

Длительная циркуляция вируса АЧС в природе обусловлена как уникальностью его биологических свойств, так и длительной его сохранностью в условиях внешней среды, в основе которой лежит сложная структурная организация вириона.

СТРУКТУРА ВИРУСА АЧС

Вирус АЧС имеет икосаэдрическую форму со средним диаметром 200 нм и состоит из ядра, образованного центральным геном-содержащим нуклеоидом и окруженного несколькими концентрическими

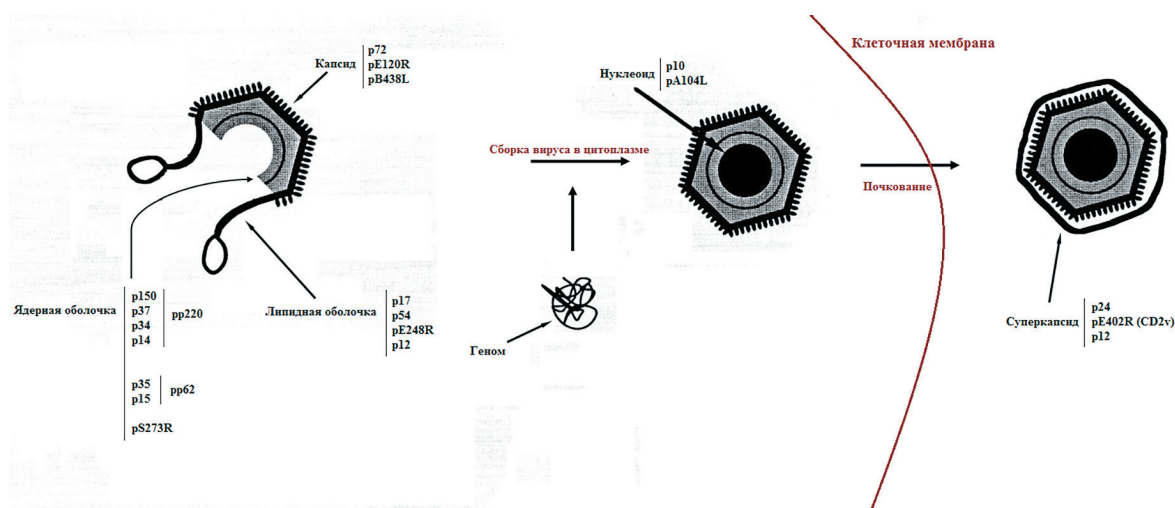


Рис. 2. Схема структурных компонентов вириона и локализация белков в нем до и после почкования через клеточную мембрану

слоями: плотным белковым слоем ядерной оболочки, внутренней липидной оболочкой и капсидом, который является внешним слоем внутриклеточных вирионов.

Внеклеточные вирионы обладают дополнительной внешней оболочкой, формируемой из плазматической мембраны путем почкования [14]. Двумерный анализ очищенного внеклеточного вируса выявил 54 структурных белка с молекулярным весом от 10 до 150 кДа.

В настоящее время известны 19 генов структурных белков [8], локализация которых определена в разных слоях вирусной частицы (рис. 2).

Как видно на рисунке 2, вирион вируса АЧС имеет оболочку, сформированную 5 группами белков, к каждой из которых относятся два и более структурных белка.

В общей сложности при репликации вируса АЧС синтезируется более 160 вирусных белков, имеющих разнообразные функции: от участия в репликации вируса до регулирования процесса внутриклеточного синтеза [8]. Причем функции почти половины белков вируса АЧС до сих пор детально не изучены.

Как и другие сложные ДНК-содержащие вирусы, у возбудителя АЧС есть белки, осуществляющие ряд процессов, позволяющих обойти защитные системы хозяина, включая врожденные и приобретенные иммунные механизмы, такие как подавление продукции интерферона I типа, регуляция апоптоза, развитие гиперергического воспаления и активация экспрессии иммуномодулирующих генов клетки-хозяина [4, 6].

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ВИРУСА АЧС

Общепризнанно, что вирус АЧС является выходцем из Восточной Африки. Болезнь была впервые описана в Кении в 1921 г. после первой вспышки в 1903 г. Однако проведенный расчет времени до ближайшего общего предка (TMRCA – time to the most recent common ancestor) позволил определить, что наиболее близкий предок всех изолятов вируса АЧС, циркулирующих в настоящее время, появился примерно три столетия назад, т. е. в начале XVIII столетия.

Геном вируса АЧС содержит от 150 до 167 открытых рамок считывания (ОРС), его размер, в зависимости от изолята, варьирует от 170 до 190 кб (т. п. н.). Геном вируса имеет центральный консервативный регион, а также правую и левую варибельные области.

Первоначально дифференциация вариантов вируса АЧС проводилась на основе результатов рестрикционного анализа и определения размера генома. Высокий уровень изменчивости наблюдался главным образом в пределах 38–47 т. п. н. на левом конце и 13–16 т. п. н. на правом конце генома (рис. 3). Эти две варибельные области содержат мультигенные семейства (MGF), которые играют существенную роль в регуляции экспрессии генов и различаются по количеству tandemных повторов.

Кроме того, многообразие вариантов вируса АЧС обусловлено варьированием количества аминокислотных повторов в 14 белках, включая центральный варибельный регион (CVR), кодируемый геном B602L, и белок оболочки p54, кодируемый геном E183L [15, 26, 30].

По сравнению с другими крупными ДНК-содержащими вирусами, такими как гаммагерпесвирус позвоночных (10^{-9} замен/позиция/год), и мелкими ДНК-содержащими вирусами, например вирус Каннингема (10^{-7} замен/позиция/год), вирус АЧС обладает очень высокой эволюционной скоростью изменчивости ($3,31 \times 10^{-4}$ замен/позиция/год с экспоненциальным ростом $0,01$ в год $^{-1}$).

Как было установлено при анализе нуклеотидных последовательностей генома вируса АЧС, скорость замен у него варьирует от 10^{-4} до 10^{-5} , что более характерно для РНК-содержащих вирусов, которые обычно имеют показатель эволюционной скорости от 10^{-2} до 10^{-5} замен/позиция/год [31].

В процессе пассирования и/или адаптации вируса АЧС к росту в перевиваемых культурах клеток также наблюдается высокий уровень изменчивости его генома, анализ которого демонстрирует наличие многочисленных замен и вставок, а также появление крупных делеций (до 3000 п. н.) как в правом, так и в левом варибельных регионах [1].

С помощью селекционного клонирования доказано, что природные популяции вируса АЧС представлены различными генетическими и антигенными вариантами. Клональный анализ природных изолятов вируса АЧС показал, что их популяции могут быть гетерогенны по составу, поэтому, по мнению R. Blasco и соавт. (1989), любая классификация изолятов вируса должна базироваться на данных о центральной консервативной области молекулы ДНК [34].



Рис. 3. Карта генома вируса АЧС

ПРИНЦИПЫ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ИЗОЛЯТОВ ВИРУСА АЧС

Сложность классификации изолятов вируса АЧС из Восточной и Южной Африки обусловила разработку системы генетического группирования на основе анализа последовательности высококонсервативного гена B646L, кодирующего мажорный вирусный белок vp72 [26]. Филогенетический анализ с использованием байесовского подхода (Bayesian estimation) и метода максимально близких соседей позволил установить, что естественная эволюция вируса АЧС может быть отслежена по гену B646L, в котором не выявлено множественных рекомбинаций, несинонимичных замен или кодонов с положительным естественным отбором.

Первоначально имевшиеся на тот момент изученные изоляты были распределены на 10 генотипов.

После подтверждения высокой степени гомологии между западноафриканскими, европейскими и южноамериканскими изолятами их сгруппировали в I генотип, что позволило определить возможные пути заноса вируса данного генотипа на разные материки.

Дальнейший филогенетический анализ вспышек АЧС показал, что I генотип продолжает распространяться в Западной и Центральной Африке [22], а в таких странах, как Уганда и Кения, вирус IX и X генотипов присутствует постоянно.

Изоляты из Восточной и Южной Африки подразделяются на 21 генотип [26, 29]. Данный факт подтверждает, что разнообразие вариантов вируса АЧС, как правило, генерируется в сylvaticком цикле [18]. На настоящий момент в Мозамбике идентифицировали уже XXIV генотип вируса АЧС [20], выделенный из мягких клещей (рис. 4).

Вирус АЧС II генотипа сохранил свое присутствие в Танзании, Мозамбике, Мадагаскаре и Замбии, и именно его распространение привело к эпизоотии в Грузии в 2007 г. [21]. Начиная с этого времени АЧС распространилась с Кавказа в Российскую Федерацию, Украину, страны Прибалтики (Эстонию, Латвию и Литву) и Польшу, затем в Китай и другие азиатские страны [23].

В последние годы определены полноразмерные последовательности геномов штаммов вируса различных генотипов [15, 25, 32], что позволяет не только идентифицировать некоторые геномные маркеры, которые могут быть использованы для генотиповой дифференциации изолятов, но и вариационные области, дающие возможность проводить внутригенотиповую дифференциацию близкородственных изолятов вируса АЧС.

Учитывая низкий уровень генетических изменений, обнаруженных в гене B646L изолятов вируса АЧС, полученных при вспышках заболевания у домашних свиней, исследование менее консервативных геномных

областей, таких как центральная вариационная область (CVR) гена B602L и ген E183L [19], использовали для внутригенотиповой дифференциации изолятов в пределах одного генотипа [7, 30]. В настоящее время для установления происхождения вируса АЧС и оценки скорости его эволюции проводят дополнительный анализ нуклеотидных последовательностей генов B602L, B646L, CP204L и E183L, кодирующих шаперон и основные структурные белки (vp72, vp30 и vp54).

Вариационная область гена B602L содержит tandemные повторы двенадцати нуклеотидов и кодирует различающиеся по количеству тетрамеры аминокислот. Так, например, у эстонских изолятов II генотипа, обнаруженных в популяции дикого кабана, были идентифицированы два генетических варианта (CVR-1 и CVR-2), содержащих 10 и 7 тетрамеров соответственно [28]. Причины вариационности гена B602L все еще не ясны, однако установлено, что белок vpB602L является шапероном, который активно участвует в сборке капсида, хотя сам не включается в вирионы [30].

Ген, кодирующий структурный белок р54, находится под позитивным селективным давлением иммунной системы, что влияет на эволюцию гена E183L и приводит к появлению сильных несинонимичных замен и рекомбинаций в его последовательности [19].

Однако для дифференциации изолятов из одной страны или одного региона анализа трех генов B602L, B646L и E183L недостаточно. Необходимы дополнительные маркеры в геноме вируса АЧС для группирования близкородственных изолятов, а также определения путей распространения вируса, изучения стабильности вирусного генома и скорости его изменчивости.

Улучшение филогенетического разрешения между близкородственными изолятами может быть достигнуто при использовании анализа других вирусных генов, таких как KP86R, I196L и интергенных регионов I73R/I329R, I78R/I215L, MGF-505 9R/10R [19, 30].

Сравнительный анализ вариационных областей генома вируса АЧС, содержащих массив tandemных повторов, позволил получить больше информации о происхождении изолятов и разделить их на подгруппы, даже если они были сгруппированы вместе на основе изучения последовательностей более консервативных областей [30].

Впервые встройка в межгенном регионе I73R/I329L обнаружена С. Gallardo и соавт. в ходе определения основных локусов изменчивости генома вируса АЧС. С этой целью авторами были использованы праймеры, фланкирующие данный регион, и получены последовательности размером 356 п. н. генома изолятов из Литвы (LT14/1482, LT14/1490) и Польши (Pol14/Sz и Pol14/Krus). Также проведен сравнительный анализ этих последовательностей с нуклеотидными последовательностями выделенных ранее изолятов из РФ. В ходе исследований обнаружен прямой tandemный повтор (TRS) размером 10 нуклеотидов (GGAATATATA) у изолятов LT14/1482, LT14/1490, Pol14/Sz и Pol14/Krus [23].

В референтной лаборатории по АЧС ФГБУ «ВНИИЗЖ» при проведении полногеномного секвенирования российских изолятов вируса АЧС, выделенных в 2013–2014 гг., у изолята Odintsovo 02/14 также обнаружен прямой tandemный повтор (GGAATATATA) размером 10 нуклеотидов (IGR-2), расположенный в правой концевой области генома в интергенном регионе между генами I73R и I329L.

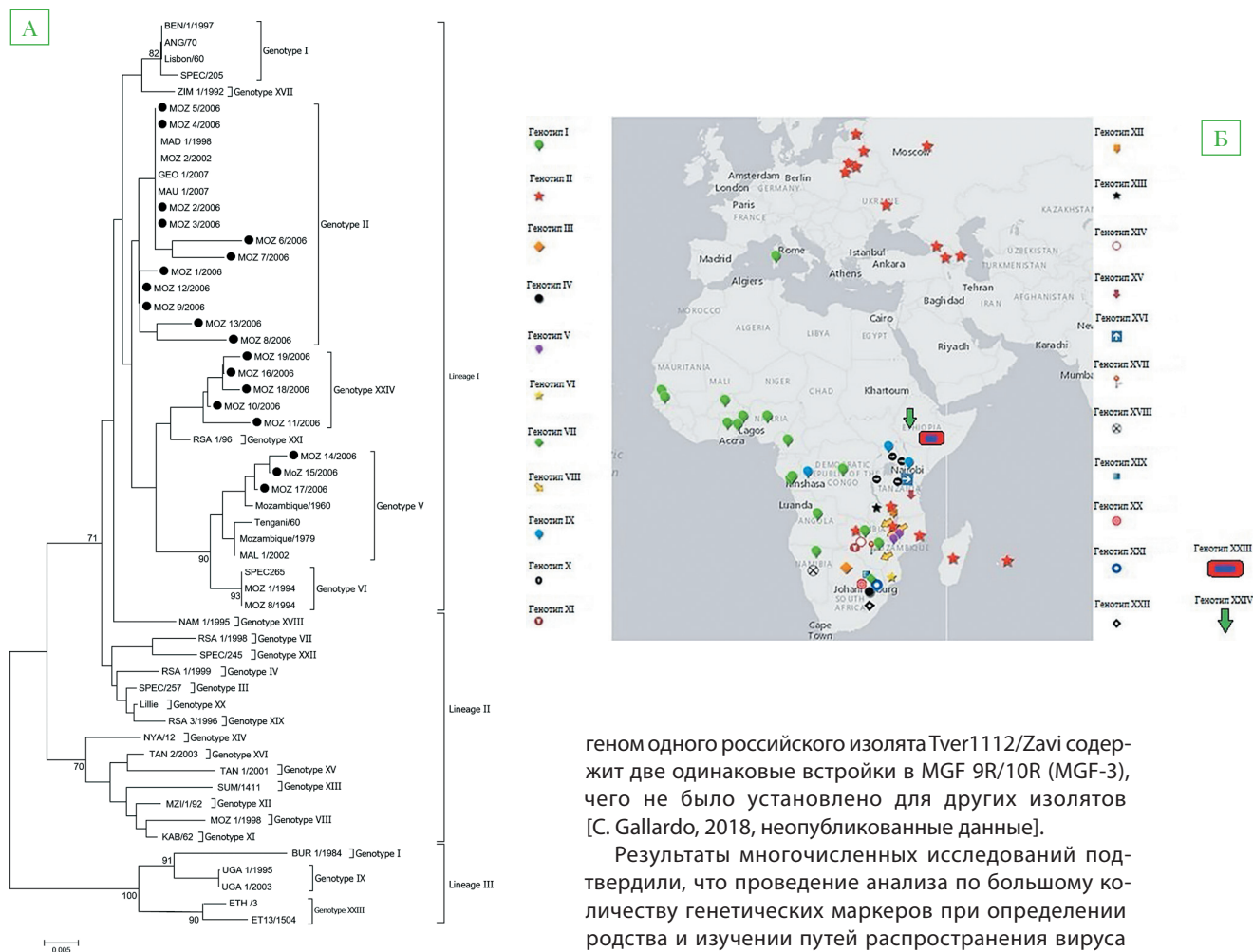


Рис. 4. Генотипы вируса АЧС

А – филогенетический анализ на основе последовательности гена B646L 55 изолятов вируса АЧС, представляющих 24 генотипа;
Б – распространение генотипов вируса АЧС в мире.

Позднее российскими специалистами впервые обнаружена 17-нуклеотидная вставка TRS в интергенном регионе MGF-505 9R/10R – (MGF-2) у изолятов Kashino 04/13, Karamzino 02/13 и Shihobalovo 10/13. В дальнейшем, используя праймеры, фланкирующие этот интергенный регион, авторами исследовано более 40 российских изолятов вируса АЧС (с 2007 по 2016 г.), и только у 7 изолятов из Тверской, Владимирской и Смоленской областей обнаружена аналогичная вставка [33].

По результатам этих исследований, российские изоляты разделены на три группы: изоляты, которые содержат тандемный повтор в MGF 9R/10R (MGF-2), которые содержат тандемный повтор в I73R/I329L (IGR-2) и которые не содержат IGR-2 или MGF-2, т. е. имеют IGR-1 или MGF-1.

В 2017 году в межгенном регионе MGF-505 9R/10R обнаружена TRS в геноме 9 польских изолятов. Геном этих изолятов содержал два тандемных повтора одновременно: один – в I73R/I329L (IGR-2) и второй – в MGF 9R/10R (MGF-2). Все изученные польские изоляты вируса АЧС, кроме одного – Pol17/WB-CASE237, содержали TRS в I73R/I329L. Кроме того, было обнаружено, что

геном одного российского изолята Tver1112/Zavi содержит две одинаковые вставки в MGF 9R/10R (MGF-3), чего не было установлено для других изолятов [С. Gallardo, 2018, неопубликованные данные].

Результаты многочисленных исследований подтвердили, что проведение анализа по большому количеству генетических маркеров при определении родства и изучении путей распространения вируса АЧС дает более точную информацию. Так, например, в случае с определением путей заноса вируса АЧС в Китай при анализе китайских изолятов вируса АЧС методом секвенирования и сравнения с другими изолятами из РФ и Восточной Европы первоначально были использованы только маркерные области TRS в I73R/I329L, С-конец гена B646L, CP204L и E148L. В результате первого этапа анализа исследователям удалось найти только наличие TRS в интергенном регионе I73R/I329L. Однако с увеличением количества этих маркеров, взятых для анализа и включающих последовательности генов C84L, MGF_360-1L, I267L, DP60R и MGF_360-16R, было установлено, что изоляты вируса АЧС Pig/HLJ/2018 и DB/LN/2018 имели максимальное сходство с изолятами, выделенными на территории Польши (Pol/2017) [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Африканская чума свиней, возможно, является самым опасным заболеванием свиней во всем мире. Возникновение данного заболевания влечет за собой большие экономические потери в промышленном и частном свиноводстве.

Одним из самых важных этапов борьбы с болезнью является мониторинг и изучение путей распространения вируса АЧС. Выявление специфических генетических маркеров остается наиболее точным методом для группировки и изучения путей распространения вируса.

В 2019 г. Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор)

сообщила, что в 2007–2019 гг. зарегистрировано более 1400 вспышек АЧС, которые привели к гибели порядка 2 миллионов свиней в 48 регионах России [33].

Методы борьбы с АЧС на настоящий день заключаются в полном уничтожении больных и контактировавших с ними животных, а также в наложении карантина на территорию радиусом до 10 километров вокруг места установленного очага.

Однако ликвидация вспышек АЧС зависит не только от уровня биобезопасности предприятий и эффективности действий ветеринарной службы, а также от присутствия векторов передачи и факторов распространения возбудителя. Высокая плотность поголовья кабанов на территории стран Европы и Юго-Восточной Азии не позволяет провести быструю элиминацию вируса АЧС в дикой природе без применения средств специфической профилактики, которых до настоящего времени не разработано.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анализ изменений генетической структуры и биологических свойств вируса африканской чумы свиней при адаптации к перевиваемой культуре клеток / А. Мазлум, Н. Г. Зиняков, А. С. Першин [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2018. – № 4. – P. 21–25; DOI: 10.29326/2304-196X-2018-4-27-21-25.
2. Анализ результатов мониторинговых исследований по выявлению ДНК вируса африканской чумы свиней, проведенных в 2017 г. / Д. Н. Федосеева, Е. В. Аронова, А. А. Варенцова [и др.] // Ветеринария сегодня. – 2018. – № 3. – P. 21–25; DOI: 10.29326/2304-196X-2018-3-26-21-25.
3. Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор). – 2019. – URL: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/2019/08-12/03.pdf>.
4. African swine fever virus controls the host transcription and cellular machinery of protein synthesis / E. G. Sanchez, A. Quintas, M. Nogal [et al.] // Virus Res. – 2013. – Vol. 173 (1). – P. 58–75; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.025.
5. African swine fever virus eradication in Africa / M. L. Penrith, W. Vosloo, F. Jori, A. D. Bastos // Virus Res. – 2013. – Vol. 173 (1). – P. 228–246; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.011.
6. African swine fever virus include multiple mechanisms for the manipulation of interferon responses / S. Correia, S. Ventura, S. Goodbourn, R. M. E. Parkhouse // Cytokine. – 2013. – Vol. 63 (3). – P. 256; DOI: 10.1016/j.cyt.2013.06.058.
7. African swine fever virus isolate, Georgia, 2007 / R. J. Rowlands, V. Michaud, L. Heath [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2008. – Vol. 14 (12). – P. 1870–1874; DOI: 10.3201/eid1412.080591.
8. African swine fever virus replication and genomics / L. K. Dixon, D. A. Chapman, C. L. Netherton, C. Upton // Virus Res. – 2013. – Vol. 173 (1). – P. 3–14; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.020.
9. African swine fever virus. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) // EFSA J. – 2015. – Vol. 13 (7):4163; DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4163.
10. An update on the epidemiology and pathology of African swine fever / J. M. Sánchez-Vizcaino, L. Mur, J. C. Gomez-Villamandos, L. Carrasco // J. Comp. Pathol. – 2015. – Vol. 152 (1). – P. 9–21; DOI: 10.1016/j.jcpa.2014.09.003.
11. Assessment of African swine fever diagnostic techniques as a response to the epidemic outbreaks in Eastern European Union Countries: How to improve surveillance and control programs / C. Gallardo, R. Nieto, A. Soler [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 2015. – Vol. 53 (8). – P. 2555–2565; DOI: 10.1128/JCM.00857-15.
12. Attenuated and non-haemadsorbing (non-HAD) genotype II African swine fever virus (ASFV) isolated in Europe, Latvia 2017 / C. Gallardo, A. Soler, I. Rodze [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. – 2019. – Vol. 66 (3). – P. 1399–1404; DOI: 10.1111/tbed.13132.
13. Blome S., Gabriel C., Beer M. Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar // Virus Res. – 2013. – Vol. 173 (1). – P. 122–130; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.026.
14. Breese, Jr. S. S., De Boer C. J. Electron microscope observation of African swine fever virus in tissue culture cells // Virology. – 1966. – Vol. 28 (3). – P. 420–428; DOI: 10.1016/0042-6822(66)90054-7.
15. Comparison of the genome sequences of non-pathogenic and pathogenic African swine fever virus isolates / D. A. Chapman, V. Tcherepanov, C. Upton, L. K. Dixon // J. Gen. Virol. – 2008. – Vol. 89 (Pt. 2). – P. 397–408; DOI: 10.1099/vir.0.83343-0.
16. Course and transmission characteristics of oral low-dose infection of domestic pigs and European wild boar with a Caucasian African swine fever virus isolate / J. Pietschmann, C. Guinat, M. Beer [et al.] // Arch. Virol. – 2015. – Vol. 160 (7). – P. 1657–1667; DOI: 10.1007/s00705-015-2430-2.
17. Detection of African swine fever antibodies in experimental and field samples from the Russian Federation: implications for control / L. Mur, A. Igolkin, A. Varentsova [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. – 2016. – Vol. 63 (5). – P. 436–440; DOI: 10.1111/tbed.12304.
18. Dixon L. K. Molecular cloning and restriction enzyme mapping of an African swine fever virus isolate from Malawi // J. Gen. Virol. – 1988. – Vol. 69 (Pt. 7). – P. 1683–1694; DOI: 10.1099/0022-1317-69-7-1683.
19. Enhanced discrimination of African swine fever virus isolates through nucleotide sequencing of the p54, p72, and pB602L (CVR) genes / C. Gallardo, D. M. Mwaengo, J. M. Macharia [et al.] // Virus Genes. – 2009. – Vol. 38 (1). – P. 85–95; DOI: 10.1007/s11262-008-0293-2.
20. Genetic characterization of African swine fever virus isolates from soft ticks at the wildlife/domestic interface in Mozambique and identification of a novel genotype / C. J. Quembo, F. Jori, W. Vosloo, L. Heath // Transbound. Emerg. Dis. – 2018. – Vol. 65 (2). – P. 420–431; DOI: 10.1111/tbed.12700.
21. Genetic characterization of African swine fever viruses from a 2008 outbreak in Tanzania / G. Misinzio, J. Magambo, J. Masambu [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. – 2011. – Vol. 58 (1). – P. 86–92; DOI: 10.1111/j.1865-1682.2010.01177.x.
22. Genetic characterization of circulating African swine fever viruses in Nigeria (2007–2015) / P. D. Luka, J. E. Achenbach, F. N. Mwiine [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. – 2017. – Vol. 64. – P. 1598–1609; DOI: 10.1111/tbed.12553.
23. Genetic variation among African swine fever genotype II viruses, eastern and central Europe / C. Gallardo, J. Fernández-Pinero, V. Pelayo [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2014. – Vol. 20 (9). – P. 1544–1547; DOI: 10.3201/eid2009.140554.
24. Genome sequences derived from pig and dried blood pig feed samples provide important insights into the transmission of African swine fever virus in China in 2018 / X. Wen, X. He, X. Zhang [et al.] // Emerg. Microbes Infect. – 2019. – Vol. 8 (1). – P. 303–306; DOI: 10.1080/22221751.2019.1565915.
25. Genomic analysis of highly virulent Georgia 2007/1 isolate of African swine fever virus / D. A. Chapman, A. C. Darby, M. Da Silva [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2011. – Vol. 17 (4). – P. 599–605; DOI: 10.3201/eid1704.101283.
26. Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterization / A. D. Bastos, M. L. Penrith, C. Crucière [et al.] // Arch. Virol. – 2003. – Vol. 148 (4). – P. 693–706; DOI: 10.1007/s00705-002-0946-8.
27. In vivo experimental studies of genotype II African swine fever virus (ASFV) isolates currently circulating in two Estonian counties / C. Gallardo, A. Soler, V. Delicado [et al.] // Proc. 10th Annual Meeting EPIZONE, 27–29 September 2016. – Madrid, 2016. – P. 81.
28. Molecular characterization of African swine fever virus (ASFV) isolates circulating in the Eastern European Union countries 2014–2016 / R. Nieto, A. Soler, I. Nurmoja [et al.] // Proc. 10th Annual Meeting EPIZONE, 27–29 September 2016. – Madrid, 2016. – P. 164.
29. Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa / B. A. Lubisi, A. D. Bastos, R. M. Dwarka, W. Vosloo // Arch. Virol. – 2005. – Vol. 150 (12). – P. 2439–2452; DOI: 10.1007/s00705-005-0602-1.
30. Molecular epidemiology of African swine fever virus studied by analysis of four variable genome regions / R. J. Nix, C. Gallardo, G. Hutchings [et al.] // Arch. Virol. – 2006. – Vol. 151 (12). – P. 2475–2494; DOI: 10.1007/s00705-006-0794-z.
31. Phylogenomics and evolutionary epidemiology of African swine fever p72-CVR genes in Eurasia and Africa / M. A. Alkhamis, C. Gallardo, C. Jurado [et al.] // PLoS ONE. – 2018. – Vol. 13 (2):e0192565; DOI: 10.1371/journal.pone.0192565.
32. Phylogenomic analysis of 11 complete African swine fever virus genome sequences / E. P. de Villiers, C. Gallardo, M. Arias [et al.] // Virology. – 2010. – Vol. 400 (1). – P. 128–136; DOI: 10.1016/j.virol.2010.01.019.
33. Tandem repeat sequence in the intergenic region MGF 505 9R/10R is a new marker of the genetic variability among ASF Genotype II viruses / A. Elskova, I. Shevchenko, A. Varentsova [et al.] // Proc. 10th Annual Meeting EPIZONE, 27–29 September 2016. – Madrid, 2016. – P. 78.
34. Variable and constant regions in African swine fever virus DNA // R. Blasco, M. Agüero, J. M. Almendral, E. Viñuela // Virology. – 1989. – Vol. 168 (2). – P. 330–338; DOI: 10.1016/0042-6822(89)90273-0.
35. World Animal Health Information Database (WAHID Interface) / OIE. – 2018. – URL: https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Disease-information/WI.

Поступила 02.08.19

Принята в печать 23.08.19

AFRICAN SWINE FEVER VIRUS: USE OF GENETIC MARKERS IN ANALYSIS OF ITS ROUTES OF SPREAD

Ali Mazloun¹, A. S. Igolkin², N. N. Vlasova³, D. V. Romenskaya⁴

¹ Biologist, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: ali.mazloun6@gmail.com; ORCID ID 0000-0002-5982-8393

² Head of Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: igolkin_as@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5438-8026

³ Chief Researcher, Doctor of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-8707-7710

⁴ Head of Sector, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: romenskaya@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-2443-1898

SUMMARY

At present no effective measures for specific prevention and treatment of African swine fever have been developed. The control strategy for the disease is designed for rapid diagnosis of infected animals with subsequent slaughter and decontamination (stamping out). The present review deals with current epidemic situation for African swine fever and examines features of the virus genomics and genetic differentiation of the isolates. The Russian Federation has been ASF-infected since 2007. Since that time the disease has been one of the key problems in pig farming of this country inflicting great economic losses, both directly and indirectly. The disease continues to spread. In January 2014 African swine fever was introduced to Lithuania, then pervaded Poland, Latvia, Estonia, Romania, Belgium and Moldova. Since 2018 the disease outbreaks have been reported in Asia (China, Vietnam, and Mongolia). Specific structure of the virus and long genome, encoding genes with unknown function, and circulation of 24 genotypes and 9 serotypes of the virus hinder the development of ASF vaccine. The article shows that the use of many specific genetic markers during determination of relationship and study of pathways of ASF virus global spread is the most accurate method.

Key words: African swine fever, structure of virus genome, genetic markers.

CURRENT SITUATION

African swine fever (ASF) is a highly dangerous hemorrhagic viral disease. It is an OIE-listed disease that must be reported due to high mortality rate among infected animals, wide spread and strong sanitary and social and economic impact on pig farming as an industry and on global trade in its products [8].

The disease is caused by the only member of the *Asfarviridae* family – a double-stranded DNA virus.

ASF epidemic is complex and varies significantly in dynamics and factors of spread between countries, regions and continents showing diverse development scenarios.

Until recently ASF was endemic in countries of sub-Saharan Africa [5], and Europe with outbreaks in Portugal, Spain (1957–1995) and Sardinia (since 1978). Taking into account the present situation in Europe, it is important to note that after the introduction of ASF virus in Georgia from East Africa in 2007, the disease rapidly spread to all Caucasus and thousands of kilometers further to the north-west of the Russian Federation [2, 7]. It also extended westwards – to Europe (2014–2019) and South-East Asia (2018–2019).

Clinical signs of ASF observed in infected animals in 2013–2015 in the EU countries were typical for the acute disease [13, 16]. However, a year after ASF occurrence in Europe researchers detected seropositive wild boars, which suggests that there have been recovered animals. This was confirmed by *in vivo* tests [9, 17, 27].

Seriousness of ASF spread is attested by outbreaks in Moldova, Czech Republic and Romania in 2017, in Hungary, China, Belgium and Mongolia in 2018, in Vietnam, Cambodia, Democratic People's Republic of Korea, Lao People's Democratic Republic and in the Far Eastern region of the Russian Federation (Fig. 1) [3, 35].

Thus, currently ASF constitutes a real threat for pig farming not only due to expanding distribution of the already circulating virus but also due to its possible re-introduction from endemic African countries the number of which is ever growing.

Primary introduction of ASF agent to the population of domestic pigs or wild boars results in peracute, acute or subacute disease with mortality rate as high as 95–100% (in 4–9 days after infection).

ASF epizootic situation in European and Asian countries, 2007 - 2019

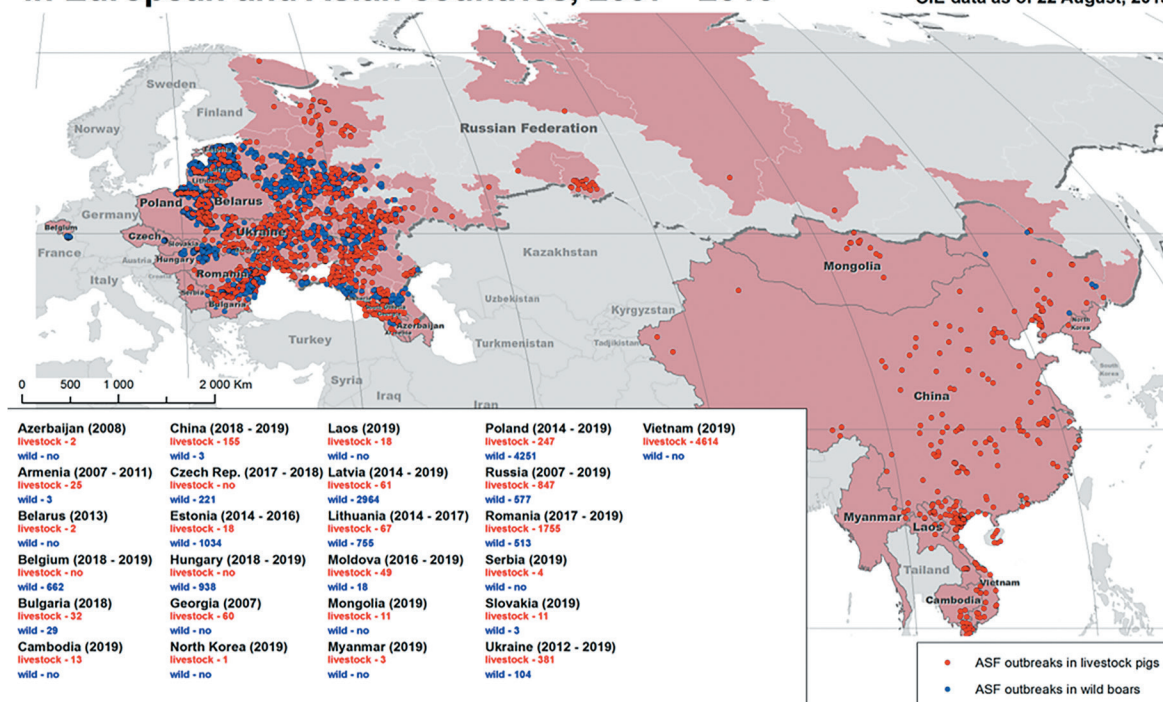


Fig. 1. ASF epizootic situation in Russia, European and Asian countries in 2007–2019 [3]

However, longtime circulation of ASF virus in the wild nature creates attenuated virus variants which cause chronic or even subclinical course of the infection. When the disease is caused by a low-virulent virus, ASF clinical manifestations are more diverse or not readily detected. ASF agent can reside in the organism of infected animals for several months without producing evident clinical signs [10, 12].

Under certain conditions an active role in the ASF spread is played by transmission vectors. Thus, for example, for centuries ASF virus circulation in East and South Africa is sustained in sylvatic cycle comprised of soft ticks of *Ornithodoros* genus and subclinically infected wild red river hogs (*Potamochoerus porcus*) and warthogs (*Phacochoerus* spp). The sylvatic cycle of ASF virus that has formed between ticks and wild boars can be maintained indefinitely which ensures virus circulation and its survival in the wild while keeping the initial virus and generating new variants.

There is no vaccine for ASF prevention. Control and eradication measures in place are based on traditional methods to combat diseases, including epidemiological surveillance, epidemiological investigation, rapid diagnosis of infected animals and stamping out policy [11].

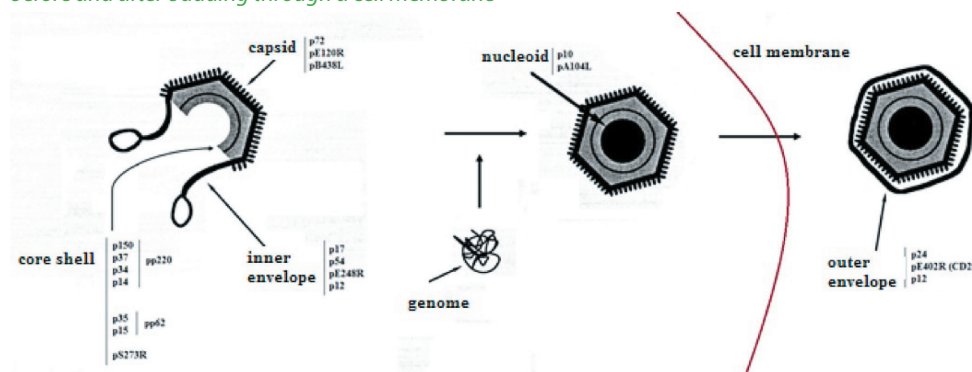
Longtime circulation of ASF virus in the wild is attributed both to its unique biological properties and its long-term survival in the outside environment which is underpinned by a complex structure of the virion.

STRUCTURE OF ASF VIRUS

ASF virus is icosahedral in morphology, about 200 nm in diameter and consists of a nucleus made of a central nucleoid with genome and surrounded by several concentric layers: a dense nucleoprotein layer, inner lipid membrane and a capsid.

Extracellular virions have an additional external envelope derived by budding from cell membrane [14].

Fig. 2. Structural components of the virion and localization of proteins before and after budding through a cell membrane



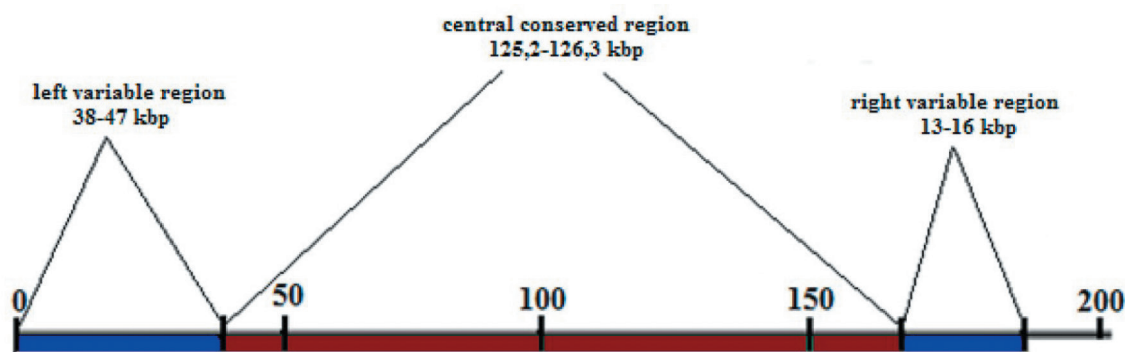


Fig. 3. Map of ASF virus genome

Two-dimensional analysis of purified extracellular virus revealed 54 structural proteins with molecular weight from 10 to 150 kDa.

Currently, 19 genes of structural proteins are known [8], localization of which is determined in different layers of the virus particle (Fig. 2).

As it can be seen in Figure 2, the virion of ASF virus has an envelope made of 5 protein groups. Each group comprises two and more structural proteins.

In total, more than 160 viral proteins are synthesized in ASF virus replication and they have different functions varying from participation in virus replication to regulation of intracellular synthesis [8]. With that, functions of nearly half of proteins of ASF virus are yet to be studied in detail.

Similar to other complex DNA viruses, ASF agent has proteins responsible for a number of processes involved in evading host defence systems, including innate and acquired immune mechanisms such as suppression of type I interferon production, regulation of apoptosis, development of hyperergic inflammation and activation of expression of cell host immunomodulatory genes [4, 6].

FEATURES OF ASF VIRUS GENETIC STRUCTURE

ASF virus is commonly acknowledged to have come from East Africa. The disease was firstly described in 1921 in Kenya, after the first outbreak in 1903. Nonetheless, TMRCA estimates (TMRCA – time to the most recent common ancestor) determined that the most recent ancestor of all ASF virus isolates circulating now appeared about three centuries ago, i.e. in the early XVIII century.

The genome of ASF virus comprises from 150 to 167 open reading frames (ORF), its size, depending on the isolate, varies from 170 to 190 kb (kbp). The virus genome has a conserved central region and right and left variable regions.

Initially, variants of ASF virus were differentiated on the basis of restriction analysis and genome size. High variability was mostly observed within the range of 38–47 kbp on the left end and 13–16 kbp on the right end of the genome (Fig. 3). Those two variable regions comprise multigene families (MGF) which play a significant role in regulation of gene expression and differ in number of tandem repetitions.

Besides, the variety of ASF virus variants is due to a variable number of amino acid repeats in 14 proteins, including central variable region (CVR) encoded by B602L gene and membrane protein p54 encoded by E183L gene [15, 26, 30].

Compared to other large DNA viruses such as gammaherpesvirus of vertebrates (10^{-9} substitutes/position/year) and small DNA viruses, for example, Cunningham virus (10^{-7} substitutes/position/year), ASF virus is characterized with a high evolutionary rate of variability ($3,31 \times 10^{-4}$ substitutes/position/year with exponential growth of 0,01 per year⁻¹).

Analysis of nucleotide sequences of ASF virus genome established that its substitution rate varies from 10^{-4} to 10^{-5} which is more common for RNA viruses which generally have evolution rate from 10^{-2} to 10^{-5} substitutes/position/year [31].

Passaging and/or growth adaptation of ASF virus in continuous cell cultures are also characterized with a high variability rate of its genome, the analysis of which demonstrates multiple substitutions and insertions as well as appearance of large deletions (up to 3000 bp) both in right and left variable regions [1].

Selection cloning was used to prove that natural populations of ASF virus were represented with various genetic and antigenic variants. Clonal analysis of ASF virus isolates showed that their populations can be heterogeneous by composition, therefore, according to R. Blasco et al. (1989), any classification of virus isolates should proceed from data on conserved central region of DNA molecule [34].

PRINCIPLES OF GENETIC DIFFERENTIATION OF ASF VIRUS ISOLATES

Due to complicated classification of ASF virus isolates from East and South Africa, the system of genetic grouping was based on the sequence analysis of highly conserved B646L gene encoding major viral protein vp72 [26]. Phylogenetic analysis with Bayesian estimation and nearest neighbours method established that natural evolution of ASF virus can be traced down by B646L gene which reportedly has no multiple recombination, non-synonymous substitutions or codons with positive natural selection.

Initially available and studied isolates were classified into 10 genotypes.

When West African, European and South American isolates were proved to be highly homologous, they were grouped into genotype I. This contributed to identifying possible introduction ways of the virus of the given genotype to different continents.

Further phylogenetic analysis of ASF outbreaks demonstrated that genotype I was ever spreading in West and Central Africa [22], and in countries such as Uganda and Kenya the virus of genotypes IX and X was permanently present.

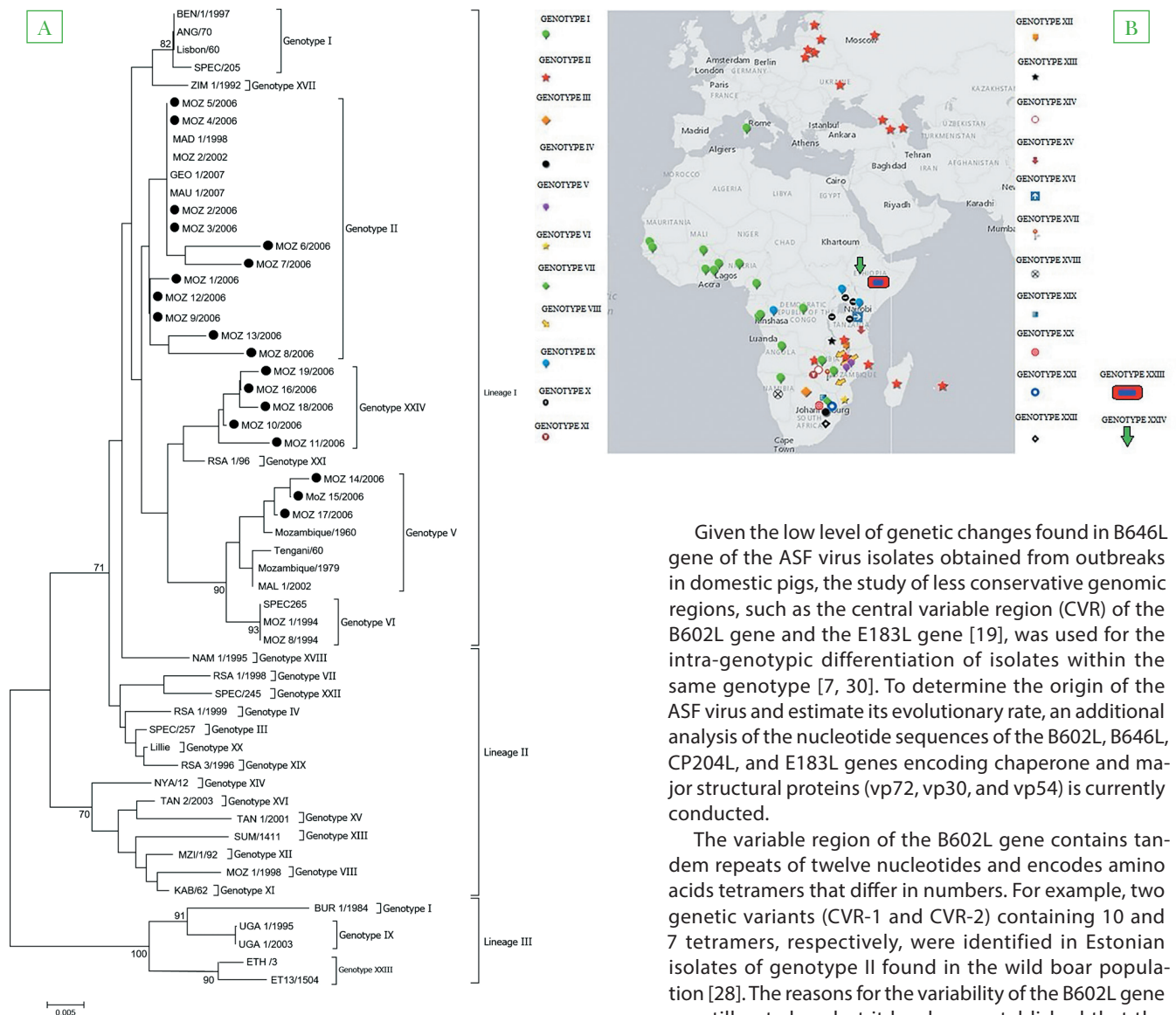


Fig. 4. ASF virus genotypes

A – phylogenetic analysis based on the B646L gene sequence of 55 ASF virus isolates representing 24 genotypes;

B – spread of ASF virus genotypes in the world.

Isolates from East and South Africa are divided into 21 genotypes [26, 29]. The fact suggests that as a rule the variety of ASF virus variants is generated in the sylvatic cycle [18]. By now, genotype XXIV of ASF virus which was isolated from soft ticks has been identified in Mozambique [20] (Fig. 4).

The ASF virus genotype II is still present in Tanzania, Mozambique, Madagascar and Zambia, and as a result its spread led to epidemic in Georgia in 2007 [21]. Since that time, ASF has spread from the Caucasus to the Russian Federation, Ukraine, the Baltic countries (Estonia, Latvia and Lithuania) and Poland, then to China and other Asian countries [23].

In recent years full-length genome sequences of virus strains of various genotypes have been determined [15, 25, 32], that allows not only identifying some genomic markers that can be used for genotypic differentiation of isolates, but also variable regions that make it possible to carry out intra-genotypic differentiation of closely related ASF virus isolates.

Given the low level of genetic changes found in B646L gene of the ASF virus isolates obtained from outbreaks in domestic pigs, the study of less conservative genomic regions, such as the central variable region (CVR) of the B602L gene and the E183L gene [19], was used for the intra-genotypic differentiation of isolates within the same genotype [7, 30]. To determine the origin of the ASF virus and estimate its evolutionary rate, an additional analysis of the nucleotide sequences of the B602L, B646L, CP204L, and E183L genes encoding chaperone and major structural proteins (vp72, vp30, and vp54) is currently conducted.

The variable region of the B602L gene contains tandem repeats of twelve nucleotides and encodes amino acids tetramers that differ in numbers. For example, two genetic variants (CVR-1 and CVR-2) containing 10 and 7 tetramers, respectively, were identified in Estonian isolates of genotype II found in the wild boar population [28]. The reasons for the variability of the B602L gene are still not clear, but it has been established that the vrB602L protein is a chaperone that is actively involved in capsid assembly, although it is not incorporated into virions [30].

The gene encoding the structural protein p54 is driven by positive selection pressure of the immune system, which modulates the evolution of the E183L gene and leads to the appearance of strong non-synonymous substitutions and recombinations in its sequence [19].

However, analysis of the three B602L, B646L, and E183L genes is not enough for the differentiation of isolates from one country or one region. Additional markers in the ASF virus genome are needed for grouping closely related isolates, as well as determining pathways of the virus distribution, and studying the stability of the viral genome and its rate of variability.

An improvement in the phylogenetic resolution between closely related isolates can be achieved using analysis of other viral genes, such as KP86R, I196L, and intergenic regions I73R/I329R, I78R/I215L, MGF-505 9R/10R [19, 30].

A comparative analysis of the ASF virus genome variable regions containing an array of tandem repeats allowed us to obtain more information about the origin of the isolates and to divide them into subgroups, even if they were grouped together based on the study of sequences of more conservative regions [30].

The insertion in the intergenic region I73R/I329L was first discovered by C. Gallardo et al. during the determination of the main loci of variability of the ASF virus genome. For this purpose, the authors used primers flanking this region and obtained 356 bp genome sequences of isolates from Lithuania (LT14/1482, LT14/1490) and Poland (Pol14 / Sz and Pol14/Krus). A comparative analysis of these sequences with nucleotide sequences of previously isolated strains from the Russian Federation was also carried out. The studies revealed a direct tandem repeat (TRS) of 10 nucleotides (GGAATATATA) in isolates LT14/1482, LT14/1490, Pol14/Sz and Pol14/Krus [23].

Genome-wide sequencing of Russian ASF virus isolates isolated in 2013–2014 in the ASF reference laboratory of FGBI "ARRIAH" showed that Odintsovo 02/14 isolate had a direct tandem repeat (GGAATATATA) of 10 nucleotides (IGR-2) located in the right terminal region of the genome in the intergenic region between the genes I73R and I329L.

Later, Russian specialists first discovered the 17-nucleotide TRS insertion in the intergenic region MGF-505 9R/10R (MGF-2) in Kashino 04/13, Karamzino 02/13 and Shihobalovo 10/13 isolates. Subsequently, using primers flanking this intergenic region, the authors studied more than 40 Russian ASF virus isolates (from 2007 to 2016), and only 7 isolates from the Tver, Vladimir, and Smolensk Oblasts showed a similar insertion [33].

According to the results of these studies, Russian isolates are divided into three groups: isolates containing the tandem repeat in MGF 9R/10R (MGF-2), containing the tandem repeat in I73R/I329L (IGR-2) and not containing IGR-2 or MGF-2, i.e., have IGR-1 or MGF-1.

In 2017 TRS was detected in the intergenic region MGF-505 9R/10R, in the genome of 9 Polish isolates. The genome of these isolates contained two tandem repeats simultaneously: one – in I73R/I329L (IGR-2) and the other – in MGF 9R/10R (MGF-2). All Polish ASF virus isolates under study, except for one, Pol17/WB-CASE237, contained TRS in I73R/I329L. In addition, it was found that the genome of one Russian isolate Tver1112/Zavi contains two identical insertions in MGF 9R/10R (MGF-3), that was not observed in other isolates [C. Gallardo, 2018, unpublished data].

The results of numerous studies have confirmed that the analysis of a large number of genetic markers in determining relationship and studying the pathways of the ASF virus gives more accurate information. So, for example, in the case of determining the ways of ASF virus introduction into China, when analyzing Chinese ASF virus isolates by sequencing and comparison with other isolates from the Russian Federation and Eastern Europe, only marker regions of TRS in I73R/I329L, C-terminus of the B646L, CP204L и E148L genes were initially used. As a result of the first stage of the analysis, the researchers were able to establish only the presence of TRS in the intergenic region I73R/I329L. However, with an increase in the number of these markers taken for analysis and including the gene sequences C84L, MGF_360-1L, I267L, DP60R and MGF_360-16R, it was found that the ASF virus isolates Pig/HLJ/2018 and DB/LN/2018 were most similar to isolates isolated in Poland (PoL/2017) [24].

CONCLUSION

African swine fever is arguably the most dangerous porcine disease in the world. The disease causes large economic losses in industrial and private pig farming.

One of the most important control stages of this disease is monitoring and studying the pathways of the ASF virus. Identification of specific genetic markers remains the most accurate method for the virus grouping and studying its spread.

In 2019 the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoz nadzor) reported that in 2007–2019 more than 1,400 ASF outbreaks were recorded, which resulted in death of about 2 million pigs in 48 regions of Russia [33].

Current ASF control measures include complete destruction of diseased animals and animals being in contact with them, as well as imposing quarantine in the area within a radius of 10-kilometers around the established outbreak.

However, elimination of ASF outbreaks depends not only on biosafety level of pig farms and the effectiveness of the veterinary service, but also on the presence of transmission vectors and pathogen distribution factors. The high density of wild boar population in Europe and Southeast Asia does not allow for the rapid elimination of ASF virus in the wild without the use of specific prophylaxis agents, which have not yet been developed.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

REFERENCES

1. Analysis of changes in the genetic structure and biological properties of African swine fever virus in adaptation to continuous cell culture [Analiz izmenenij geneticheskoy struktury i biologicheskikh svoystv virusa afrikanskoj chumy svinej pri adaptatsii k perevivaemoy kul'ture kletok]. A. Mazloum, N. G. Zinyakov, A. S. Pershin [et al.]. *Veterinary Science Today*. 2018; 4: 21–25; DOI: 10.29326/2304-196X-2018-4-27-21-25 (in Russian).
2. Analysis of monitoring study results of African swine fever virus DNA in 2017 [Analiz rezul'tatov monitoringovykh issledovaniy po vyyavleniyu DNK virusa afrikanskoj chumy svinej, provedennykh v 2017 g.]. D. N. Fedoseyeva, Ye. V. Aronova, A. A. Varentzova [et al.]. *Veterinary Science Today*. 2018; 3: 21–25; DOI: 10.29326/2304-196X-2018-3-26-21-25 (in Russian).
3. Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoz nadzor) [Federal'naya sluzhba po veterinarnomu i fitosanitarnomu nadzoru (Rossel'hoznadzor)]. 2019. URL: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/2019/08-12/03.pdf> (in Russian).
4. African swine fever virus controls the host transcription and cellular machinery of protein synthesis. E. G. Sanchez, A. Quintas, M. Nogal [et al.]. *Virus Res*. 2013; 173 (1): 58–75; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.025.
5. African swine fever virus eradication in Africa. M. L. Penrith, W. Vosloo, F. Jori, A. D. Bastos. *Virus Res*. 2013; 173 (1): 228–246; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.011.
6. African swine fever virus include multiple mechanisms for the manipulation of interferon responses. S. Correia, S. Ventura, S. Goodbourn, R. M. E. Parkhouse. *Cytokine*. 2013; 63 (3): 256; DOI: 10.1016/j.cyto.2013.06.058.
7. African swine fever virus isolate, Georgia, 2007. R. J. Rowlands, V. Michaud, L. Heath [et al.]. *Emerg. Infect. Dis*. 2008; 14 (12): 1870–1874; DOI: 10.3201/eid1412.080591.
8. African swine fever virus replication and genomics. L. K. Dixon, D. A. Chapman, C. L. Netherton, C. Upton. *Virus Res*. 2013; 173 (1): 3–14; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.020.
9. African swine fever virus. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). *EFSA J*. 2015; 13 (7):4163; DOI: 10.2903/j.efsa.2015.4163.
10. An update on the epidemiology and pathology of African swine fever. J. M. Sánchez-Vizcaino, L. Mur, J. C. Gomez-Villamandos,

- L. Carrasco. *J. Comp. Pathol.* 2015; 152 (1): 9–21; DOI: 10.1016/j.jcpa.2014.09.003.
11. Assessment of African swine fever diagnostic techniques as a response to the epidemic outbreaks in Eastern European Union Countries: How to improve surveillance and control programs. C. Gallardo, R. Nieto, A. Soler [et al.]. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53 (8): 2555–2565; DOI: 10.1128/JCM.00857-15.
12. Attenuated and non-haemadsorbing (non-HAD) genotype II African swine fever virus (ASFV) isolated in Europe, Latvia 2017. C. Gallardo, A. Soler, I. Rodze [et al.]. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019; 66 (3): 1399–1404; DOI: 10.1111/tbed.13132.
13. Blome S., Gabriel C., Beer M. Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar. *Virus Res.* 2013; 173 (1): 122–130; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.026.
14. Breese, Jr. S. S., De Boer C. J. Electron microscope observation of African swine fever virus in tissue culture cells. *Virology.* 1966; 28 (3): 420–428; DOI: 10.1016/0042-6822(66)90054-7.
15. Comparison of the genome sequences of non-pathogenic and pathogenic African swine fever virus isolates. D. A. Chapman, V. Tcherepanov, C. Upton, L. K. Dixon. *J. Gen. Virol.* 2008; 89 (Pt. 2): 397–408; DOI: 10.1099/vir.0.83343-0.
16. Course and transmission characteristics of oral low-dose infection of domestic pigs and European wild boar with a Caucasian African swine fever virus isolate. J. Pietschmann, C. Guinat, M. Beer [et al.]. *Arch. Virol.* 2015; 160 (7): 1657–1667; DOI: 10.1007/s00705-015-2430-2.
17. Detection of African swine fever antibodies in experimental and field samples from the Russian Federation: implications for control. L. Mur, A. Igolkin, A. Varentsova [et al.]. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (5): 436–440; DOI: 10.1111/tbed.12304.
18. Dixon L. K. Molecular cloning and restriction enzyme mapping of an African swine fever virus isolate from Malawi. *J. Gen. Virol.* 1988; 69 (Pt. 7): P. 1683–1694; DOI: 10.1099/0022-1317-69-7-1683.
19. Enhanced discrimination of African swine fever virus isolates through nucleotide sequencing of the p54, p72, and pB602L (CVR) genes. C. Gallardo, D. M. Mwaengo, J. M. Macharia [et al.]. *Virus Genes.* 2009; 38 (1): 85–95; DOI: 10.1007/s11262-008-0293-2.
20. Genetic characterization of African swine fever virus isolates from soft ticks at the wildlife/domestic interface in Mozambique and identification of a novel genotype. C. J. Quembo, F. Jori, W. Vosloo, L. Heath. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (2): 420–431; DOI: 10.1111/tbed.12700.
21. Genetic characterization of African swine fever viruses from a 2008 outbreak in Tanzania. G. Misinzo, J. Magambo, J. Masambu [et al.]. *Transbound. Emerg. Dis.* 2011; 58 (1): 86–92; DOI: 10.1111/j.1865-1682.2010.01177.x.
22. Genetic characterization of circulating African swine fever viruses in Nigeria (2007–2015). P. D. Luka, J. E. Achenbach, F. N. Mwiine [et al.]. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64: 1598–1609; DOI: 10.1111/tbed.12553.
23. Genetic variation among African swine fever genotype II viruses, eastern and central Europe. C. Gallardo, J. Fernández-Pinero, V. Pelayo [et al.]. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20 (9): 1544–1547; DOI: 10.3201/eid2009.140554.
24. Genome sequences derived from pig and dried blood pig feed samples provide important insights into the transmission of African swine fever virus in China in 2018. X. Wen, X. He, X. Zhang [et al.]. *Emerg. Microbes Infect.* 2019; 8 (1): 303–306; DOI: 10.1080/22221751.2019.1565915.
25. Genomic analysis of highly virulent Georgia 2007/1 isolate of African swine fever virus. D. A. Chapman, A. C. Darby, M. Da Silva [et al.]. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17 (4): 599–605; DOI: 10.3201/eid1704.101283.
26. Genotyping field strains of African swine fever virus by partial p72 gene characterization. A. D. Bastos, M. L. Penrith, C. Cruciére [et al.]. *Arch. Virol.* 2003; 148 (4): 693–706; DOI: 10.1007/s00705-002-0946-8.
27. *In vivo* experimental studies of genotype II African swine fever virus (ASFV) isolates currently circulating in two Estonian counties. C. Gallardo, A. Soler, V. Delicado [et al.]. *Proc. 10th Annual Meeting EPIZONE*, 27–29 September 2016. Madrid, 2016: 81.
28. Molecular characterization of African swine fever virus (ASFV) isolates circulating in the Eastern European Union countries 2014–2016. R. Nieto, A. Soler, I. Nurmoja [et al.]. *Proc. 10th Annual Meeting EPIZONE*, 27–29 September 2016. Madrid, 2016: 164.
29. Molecular epidemiology of African swine fever in East Africa. B. A. Lubisi, A. D. Bastos, R. M. Dwarka, W. Vosloo. *Arch. Virol.* 2005; 150 (12): 2439–2452; DOI: 10.1007/s00705-005-0602-1.
30. Molecular epidemiology of African swine fever virus studied by analysis of four variable genome regions. R. J. Nix, C. Gallardo, G. Hutchings [et al.]. *Arch. Virol.* 2006; 151 (12): 2475–2494; DOI: 10.1007/s00705-006-0794-z.
31. Phylodynamics and evolutionary epidemiology of African swine fever p72-CVR genes in Eurasia and Africa. M. A. Alkhamis, C. Gallardo, C. Jurado [et al.]. *PLoS ONE*. 2018; 13 (2): e0192565; DOI: 10.1371/journal.pone.0192565.
32. Phylogenomic analysis of 11 complete African swine fever virus genome sequences. E. P. de Villiers, C. Gallardo, M. Arias [et al.]. *Virology.* 2010; 400 (1): 128–136; DOI: 10.1016/j.virol.2010.01.019.
33. Tandem repeat sequence in the intergenic region MGF 505 9R/10R is a new marker of the genetic variability among ASF Genotype II viruses. A. Elskova, I. Shevchenko, A. Varentsova [et al.]. *Proc. 10th Annual Meeting EPIZONE*, 27–29 September 2016. Madrid, 2016: 78.
34. Variable and constant regions in African swine fever virus DNA. R. Blasco, M. Agüero, J. M. Almendral, E. Viñuela. *Virology.* 1989; 168 (2): 330–338; DOI: 10.1016/0042-6822(89)90273-0.
35. World Animal Health Information Database (WAHID Interface). *OIE*. 2018. URL: https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI.

Submitted on 02.08.19

Approved for publication on 23.08.19

КЛЕТОЧНЫЙ ИММУНИТЕТ И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У СВИНОМАТОК ДО ОПОРОСА И В ПЕРИОД ЛАКТАЦИИ

А. Г. Шахов¹, С. В. Шабунин², Л. Ю. Сашнина³, М. И. Адодина⁴, М. Ю. Жейнес⁵, К. В. Тараканова⁶, К. О. Копытина⁷

¹ Главный научный сотрудник, доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия, e-mail: A.G.Shakhov@mail.ru

² Директор, доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия, e-mail: vnivipat@mail.ru; ORCID ID 0000-0002-2689-6998

³ Главный научный сотрудник, доктор ветеринарных наук, ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия, e-mail: L.Yu.Sashnina@mail.ru

⁴ Старший научный сотрудник, ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия, e-mail: vnivipat@mail.ru

⁵ Аспирант, ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия, e-mail: vnivipat@mail.ru

⁶ Младший научный сотрудник, ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия, e-mail: vnivipat@mail.ru

⁷ Младший научный сотрудник, ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия, e-mail: vnivipat@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты изучения состояния клеточного иммунитета и цитокинового профиля у выращенных в промышленном хозяйстве свиноматок до опороса и в период лактации. У животных до родов зарегистрирован физиологический иммунодефицит, характеризующийся относительной лейкоцито- и лимфоцитопенией, пониженным содержанием Т-лимфоцитов, более высоким отношением хелперы/супрессоры, обеспечивающим иммунологическую толерантность в системе «мать–плод». В их цитокиновом профиле имели место относительный дефицит интерлейкина-1β и фактора некроза опухоли-α, при котором наблюдается супрессия иммунной системы, и высокий уровень γ-интерферона, участвующего в родовой деятельности и активирующего клетки-супрессоры. У свиноматок после опороса отмечено повышение клеточного иммунитета, проявляющееся увеличением содержания лейкоцитов, лимфоцитов, Т-лимфоцитов, тенденцией снижения соотношения Т-хелперы/Т-супрессоры, свидетельствующей о супрессивной активности Т-лимфоцитов. Цитокиновый профиль свиноматок характеризовался восстановлением содержания интерлейкина-1β, фактора некроза опухоли-α, γ-интерферона, снижением уровней интерлейкина-2 и интерлейкина-4, регулирующих соответственно клеточный и гуморальный иммунитет, с последующим существенным их повышением, особенно интерлейкина-2, после проведенной иммунизации животных против парвовирусной инфекции и рожи вакциной «Парвовуакс» (Merial, Франция) на 7-е сутки и против классической чумы свиней вирусвакциной культуральной сухой «ЛК-ВНИИВВиМ» (ОАО «Покровский завод биопрепаратов») на 14-е сутки после опороса. Это связано с формированием клеточного и гуморального иммунитета.

Ключевые слова: свиноматки, лейкоциты, лимфоциты, Т- и В-клетки, цитокины, иммунодефицит, клеточный и гуморальный иммунитет.

ВВЕДЕНИЕ

На крупных промышленных животноводческих предприятиях широко распространены заболевания маточного поголовья и молодняка, несмотря на интенсивное применение биологических и химиотерапевтических средств для их профилактики и терапии [1, 11, 13].

Многочисленными исследованиями установлено, что в основе большинства патологических процессов у животных лежат иммунодефицитные состояния [3, 6, 7, 15].

Одной из основных причин вторичных иммунодефицитов у животных является экологическое неблагополучие внешней среды, обусловленное загрязнением диоксидами азота, серы, оксидами углерода, солями тяжелых металлов, нитратами и другими ксенобиотиками; контаминацией кормов токсинами биологической природы (микотоксинами); дефицитом в кормах биологически активных веществ (микроэлементов, витаминов); высокой концентрацией потенциально патогенных микроорганизмов в помещениях [2, 9, 12, 17].

Перевод свиноводства на промышленную основу, характеризующуюся безвыгульным содержанием животных большими группами, ранним отъемом поросят, перегруппировками, многочисленными вакцинациями, применением химиотерапевтических средств и других препаратов, существенно повлиял на иммунный статус организма животных, восприимчивость их к бактериальным и вирусным инфекциям [13, 16].

В сложившейся ситуации большую актуальность приобретает оценка и контроль состояния иммунной системы продуктивных животных с целью нормализации общего и иммунного гомеостаза организма, повышения эффективности проводимых профилактических и лечебных мероприятий.

Изучению иммунного статуса у свиней, и в частности у свиноматок, от состояния которого зависит качество и сохранность приплода, посвящено значительное количество работ, однако по отдельным его вопросам, в том числе цитокиновому профилю, являющемуся одним из важнейших показателей функционирования иммунной системы, в отечественной литературе имеются лишь отдельные сообщения.

Цель исследования – изучить в динамике состояние клеточного иммунитета и цитокинового профиля у свиноматок до опороса и в период лактации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в условиях промышленного свиноводческого комплекса ООО «Вишневокское» Верхнехавского района Воронежской области на свиноматках помесных пород (крупная белая + ландрас + дюрок) 3-го опороса.

На 108-е сутки супоросности свиноматки после санитарной обработки были переведены в цех опороса в очищенный и продезинфицированный бокс и размещены в индивидуальные станки. Животных содержали при оптимальных параметрах микроклимата с учетом их физиологического состояния. Средняя температура в боксе составляла 20–22 °С, относительная влажность воздуха – 65–70%. В период опыта свиноматок кормили комбикормом СК-2, сбалансированным, согласно данным производителя, по обменной (мДЖ/кг) и чистой (ккал/кг) энергии, протеину, аминокислотам, витаминам, макро- и микроэлементам.

За животными вели клинические наблюдения до опороса, в период родов и в течение 26 суток после них.

В первые, вторые и третьи сутки после опороса для профилактики послеродовых болезней (острый катарально-гнойный эндометрит, мастит-метрит-агалактия) свиноматкам внутримышечно вводили «Утеротон». На 7-е сутки после опороса животных иммунизировали против парвовирусной инфекции и рожи инактивированной вакциной «Парворувакс» (Merial, Франция) и на 14-е сутки – против классической чумы свиней вирусвакциной культуральной сухой «ЛК-ВНИИВВиМ» (ОАО «Покровский завод биопрепаратов»). За 5–7 суток до родов, на 1, 7, 14, 22 и 26-е сутки после опороса у 6 свиноматок была взята кровь для изучения клеточного иммунитета и цитокинового профиля.

Показатели клеточного иммунитета – лейкоциты, Т- и В-лимфоциты, Т-супрессоры (Ттфч), Т-хелперы (Ттфр), соотношение Т-хелперов и Т-супрессоров (Ттфр/Ттфч) – изучали в соответствии с «Методическими рекомендациями по оценке и коррекции иммунного статуса животных» [8].

Содержание интерлейкина-1β (ИЛ-1β), интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-4 (ИЛ-4), интерлейкина-10 (ИЛ-10), фактора некроза опухоли-α (ФНО-α), γ-интерферона (ИФН-γ) в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с последующим учетом результатов на спектрофотометре «Униплан™» в соответствии с утвержденными наставлениями к диагностическим наборам.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica v6.1, оценку достоверности – по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В период проведения иммунологических исследований у всех свиноматок показатели клинического статуса были в пределах нормы.

При изучении клеточного иммунитета установлено, что у свиноматок до опороса количество лейкоцитов, играющих исключительно важную роль в антиинфекционной защите, было относительно низким – $(9,8 \pm 0,73) \times 10^9/\text{л}$, а после опороса повышалось в 1-е сутки на 5,1%, на 7-е сутки – на 24,5%; 14-е сутки – на 44,9%; 22-е сутки – на 42,6% и 26-е сутки – на 36,7% относительно показателя до опороса (табл. 1).

Аналогичная динамика, за исключением первых суток после опороса, отмечена и в абсолютном содержании лимфоцитов, являющихся главными клетками иммунной системы, отвечающими за все иммунологические реакции. До родов у свиноматок абсолютное количество лимфоцитов было невысоким – $(3,6 \pm 0,34) \times 10^9/\text{л}$, после опороса регистрировали увеличение на 7-е сутки – на 16,7%, на 14-е сутки – на 41,7%, на 22-е сутки – в 2,1 раза и на 26-е сутки – на 72,2%. Относительное содержание лейкоцитов снизилось в 1-е и 7-е сутки после опороса на 13,7 и 6,7%, а на 14, 22 и 26-е сутки увеличилось на 7,0; 53,6 и 26,2% соответственно.

Абсолютное количество Т-лимфоцитов у свиноматок до опороса составило $(4,9 \pm 0,35) \times 10^9/\text{л}$, а после родов увеличилось во все сроки исследований на 28,6; 75,5; 71,4; 36,7 и 26,5%, так же как и их относительное содержание: в 1-е сутки – на 21,8%, на 7-е сутки – на 25,2%, на 14-е сутки – на 17,9% и на 22-е сутки – на 5,4%. При этом отмечена тенденция снижения относительного количества Т-лимфоцитов начиная с 14-х суток лактации свиноматок, а на 26-е сутки оно было на 9,1% меньше, чем у животных до опороса.

Абсолютное и относительное содержание Ттфч, подавляющих иммунный ответ и отвечающих за им-

Таблица 1
Клеточный иммунитет у свиноматок

Показатели	За 5–7 суток до опороса	Сутки после опороса				
		1	7	14	22	26
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$9,8 \pm 0,73$	$10,3 \pm 0,95$	$12,2 \pm 1,26$	$14,2 \pm 0,69^*$	$14,0 \pm 0,77^*$	$13,4 \pm 0,77$
Лимфоциты, %	$38,6 \pm 2,8$	$33,3 \pm 1,10$	$36,0 \pm 2,73$	$41,3 \pm 2,60$	$59,3 \pm 2,15^*$	$48,7 \pm 1,36$
абс., $10^9/\text{л}$	$3,6 \pm 0,34$	$3,42 \pm 0,49$	$4,2 \pm 0,83$	$5,1 \pm 0,66$	$7,42 \pm 0,75^*$	$6,2 \pm 0,08^*$
Т-лимфоциты, %	$50,3 \pm 1,54$	$61,8 \pm 1,32^*$	$63,0 \pm 0,91^*$	$59,3 \pm 1,11^*$	$53,0 \pm 1,11$	$45,7 \pm 0,65$
абс., $10^9/\text{л}$	$4,9 \pm 0,35$	$6,3 \pm 0,53$	$8,6 \pm 0,78^*$	$8,4 \pm 0,75$	$6,7 \pm 0,91$	$6,2 \pm 0,49$
Ттфч, %	$16,0 \pm 0,45$	$21,5 \pm 0,64^*$	$21,5 \pm 1,04^*$	$17,5 \pm 0,96$	$11,3 \pm 1,11^*$	$8,5 \pm 1,04^*$
абс., $10^9/\text{л}$	$0,79 \pm 0,07$	$1,32 \pm 0,14$	$1,69 \pm 0,39$	$1,5 \pm 0,12^*$	$0,81 \pm 0,09$	$0,55 \pm 0,009$
Ттфр, %	$39,3 \pm 1,05$	$43,8 \pm 1,11$	$42,8 \pm 0,85$	$39,5 \pm 1,41$	$21,3 \pm 1,93^*$	$18,5 \pm 1,41^*$
абс., $10^9/\text{л}$	$2,0 \pm 0,16$	$2,7 \pm 0,32$	$4,1 \pm 0,39^*$	$3,4 \pm 0,37$	$1,5 \pm 0,31$	$1,2 \pm 0,14^*$
Ттфр/Ттфч	$2,4:1 \pm 0,07$	$2:1 \pm 0,001^*$	$2:1 \pm 0,09^*$	$2,3:1 \pm 0,55$	$1,9:1 \pm 0,41$	$2,2:1 \pm 0,15$
В-лимфоциты, %	$23,7 \pm 1,28$	$21,8 \pm 0,85$	$23,0 \pm 0,91$	$20,3 \pm 0,63$	$18,0 \pm 0,91$	$14,8 \pm 1,11^*$
абс., $10^9/\text{л}$	$2,3 \pm 0,24$	$2,3 \pm 0,29$	$2,8 \pm 0,63$	$2,9 \pm 0,27$	$2,3 \pm 0,32$	$2,0 \pm 0,27$

* $p < 0,001$ относительно показателя до опороса.

Таблица 2
Цитокиновый профиль свиноматок

Показатели, пг/мл	За 5–7 суток до опороса	Сутки после опороса				
		1	7	14	22	26
ИЛ-1β	10,9 ± 0,30	11,2 ± 0,19	11,0 ± 0,29	11,3 ± 0,1	12,0 ± 0,83	11,4 ± 0,15
ИЛ-2	11,0 ± 0,94	7,6 ± 0,23	10,6 ± 0,94	12,2 ± 1,53	49,7 ± 3,92**	15,5 ± 0,87 [#]
ИЛ-4	10,7 ± 1,69	6,0 ± 0,85	6,3 ± 0,66	4,9 ± 0,34	10,6 ± 0,92 [#]	9,6 ± 0,85
ИЛ-10	21,0 ± 0,32	20,7 ± 0,59	22,8 ± 1,59	22,4 ± 1,08	21,5 ± 0,86	21,4 ± 0,35
ФНО-α	3,6 ± 0,07	3,9 ± 0,37	4,0 ± 0,23	3,5 ± 0,12	3,7 ± 0,12	4,3 ± 0,17*
ИФН-γ	96,6 ± 15,29	70,3 ± 10,49	15,3 ± 1,26**	18,4 ± 3,21*	17,3 ± 1,02*	11,1 ± 1,73*

* $p < 0,001$ относительно показателя до опороса;

[#] $p < 0,001$ относительно показателя предыдущего срока.

муносупрессию, обусловленную микроорганизмами, и Тфр, обеспечивающих формирование гуморального (синтез антител) и клеточного иммунитета и активацию макрофагов, также претерпело изменения у животных до и после опороса. Так, у свиноматок на 1, 7, 14 и 22-е сутки после родов абсолютное количество Т-супрессоров превышало аналогичный показатель до опороса на 67,1%, в 2,1 раза, на 89,9 и 2,5% соответственно, а на 26-е сутки было ниже на 30,4%. Относительное их содержание также превышало сравниваемый показатель в 1-е и 7-е сутки на 34,3%, 14-е сутки – на 9,4%, а на 22-е и 26-е сутки был ниже на 29,4% и в 1,9 раза соответственно.

Абсолютное количество Т-хелперов повышалось у животных после опороса в 1, 7 и 14-е сутки на 35%, в 2,1 и 1,7 раза и снижалось на 21-е и 26-е сутки на 25,0 и 40,0%, а относительное содержание было выше в 1-е сутки – на 11,5%, на 7-е сутки – на 8,4%, на 14-е сутки – равное показателю до опороса, а на 22-е и 26-е сутки ниже на 45,8 и 52,9% соответственно.

У свиноматок до опороса соотношение Тфр/Тфч было наиболее высоким ($2,4:1 \pm 0,07$), что указывало на относительно низкую супрессивную активность Т-лимфоцитов, обеспечивающую иммунологическую толерантность в системе «мать–плод».

У животных после родов во все сроки исследований отмечена тенденция снижения соотношения Тфр/Тфч-клеток, что свидетельствовало о повышении супрессивной активности Т-лимфоцитов, обусловленной циркулирующими в среде обитания животных микроорганизмами.

Абсолютное количество В-лимфоцитов, предназначенных для реализации иммунного ответа с образованием специфических антител, у свиноматок до и после опороса изменялось незначительно. Повышение их уровня отмечено на 7-е и 14-е сутки после опороса на 21,7 и 26,1% и снижение на 26-е сутки на 13,0%. Относительное количество В-лимфоцитов снизилось во все сроки исследований: в 1-е сутки – на 8,0%, на 7-е сутки – на 3,0%, на 14-е сутки – на 14,3%, на 22-е сутки – на 24,1% и на 26-е сутки – на 37,6%.

Результаты изучения клеточного иммунитета у животных до и после опороса свидетельствуют о физиологическом иммунодефиците у супоросных свиноматок, необходимом для сохранения беременности и благополучном вынашивании приплода. На его наличие указывает пониженное содержание лейкоцитов по сравнению

с таковым у животных после родов, абсолютного и относительного количества лимфоцитов, Т-лимфоцитов, более высокое соотношение хелперы/супрессоры, что свидетельствует о снижении супрессивной активности Т-лимфоцитов, обеспечивающей предотвращение неизбежного конфликта между матерью и плодом.

При изучении цитокинового профиля у свиноматок установлены незначительные изменения в содержании двух из четырех исследованных провоспалительных цитокинов ИЛ-1β и ФНО-α, продуцируемых фагоцитами и дендритными клетками и участвующих в индукции иммунного ответа, воспалении и регенерации клеток (табл. 2).

Уровень ИЛ-1β у свиноматок после опороса во все сроки исследований незначительно (от 1,0 до 10,0%) превышал таковой у животных перед родами.

Аналогичная положительная динамика (от 2,8 до 19,4%) у свиноматок в период лактации отмечена и в содержании ФНО-α. При относительной недостаточности цитокинов ИЛ-1β, ФНО-α, которую регистрировали в конце беременности, у животных наблюдается супрессия иммунной системы [10].

Уровень противовоспалительного интерлейкина – ИЛ-10, синтезируемого Т-хелпер 2 (Th-2) и Т-цитотоксическими лимфоцитами и участвующего в индукции гуморального иммунитета и обладающего цитотоксичностью [4], у животных до и после опороса был практически одинаковым.

Существенные изменения произошли в содержании ИЛ-2, продуцируемого лимфоцитами Т-хелпер 1 (Th-1) и Т-цитотоксическими клетками и определяющего развитие клеточного иммунитета [4].

У свиноматок после опороса по сравнению с показателем до родов снизилось содержание ИЛ-2 в 1-е и на 7-е сутки на 30,9 и 3,6%, а на 14, 22 и 26-е сутки возросло соответственно на 10,9%, в 4,5 раза и 40,9%.

Уровень ИЛ-4, секретируемого Th-2 и определяющего развитие гуморального иммунитета, у животных после опороса был ниже в 1-е сутки – на 45,9%, на 7-е сутки – на 41,4%, а на 14-е сутки – в 2,2 раза, а затем увеличился на 22-е сутки по сравнению с предыдущим показателем в 2,2 раза, после чего на 26-е сутки снизился на 10,3%.

Снижение содержания ИЛ-2 и ИЛ-4 у животных после опороса, по-видимому, связано с прекращением воздействия антигенов плода на иммунокомпетентные клетки свиноматок, синтезирующие указанные интерлейкины.

Существенное повышение уровней ИЛ-2 и ИЛ-4 на 22-е сутки свидетельствовало о формировании клеточного и гуморального иммунитета после вакцинаций против парвовирусной инфекции, рожи и классической чумы свиней, проведенных на 7-е и 14-е сутки после опороса свиноматок. При этом наибольшее увеличение отмечено в содержании ИЛ-2, регулирующего клеточный иммунитет, который сформировался у животных после введения живой вирусвакцины против классической чумы свиней.

Уровень ИФН- γ , синтезируемый Th-1, Т-цитотоксическими лимфоцитами и естественными киллерами и являющийся ключевым цитокином клеточного и ингибитором гуморального адаптивного иммунного ответа, наиболее высоким был у свиноматок до опороса и в первые сутки после него.

Исследованиями [14] показано, что перед родами увеличивается количество ИФН- γ , который участвует в инициации родовой деятельности путем активации синтеза простагландинов E2 и F, стимулирующих сокращение мускулатуры матки и усиление активности рецепторов окситоцина в миометрии. Кроме того, высокое содержание ИФН- γ ингибирует антигензависимую пролиферацию Т- и В-лимфоцитов и активирует клетки-супрессоры [5]. Относительно высокий уровень ИФН- γ у свиноматок после опороса способствует развитию инволюционных процессов.

На 7-е сутки количество ИФН- γ снизилось в 6,3 раза, на 14-е сутки – в 5,3 раза, на 22-е сутки – в 5,6 раза и на 26-е сутки – в 8,7 раза.

Изучение цитокинового профиля выявило у свиноматок до опороса относительный дефицит провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β и ФНО- α , при котором наблюдается супрессия иммунной системы, высокий уровень ИФН- γ , участвующего в инициации родовой деятельности и активирующего клетки-супрессоры, а в период лактации – снижение уровня ИЛ-2 в течение первых 7 суток после опороса и ИЛ-4 на 14-е сутки после опороса с последующим существенным их повышением, связанным с формированием клеточного и гуморального иммунитета после вакцинации животных против парвовирусной инфекции, рожи и классической чумы свиней.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У свиноматок перед опоросом регистрировали физиологический иммунодефицит, проявляющийся относительной лейкоцито- и лимфоцитопенией, низким содержанием Т-лимфоцитов, более высоким отношением хелперы/супрессоры, обеспечивающим иммунологическую толерантность в системе «мать-плод». В цитокиновом профиле животных имели место относительный дефицит ИЛ-1 β и ФНО- α , при котором наблюдается супрессия иммунной системы, и высокий уровень ИФН- γ , участвующего в родовой деятельности и активирующего клетки-супрессоры.

У свиноматок после опороса повышение клеточного иммунитета сопровождалось увеличением содержания лейкоцитов, лимфоцитов, Т-лимфоцитов, тенденцией снижения соотношения Ттфр/Ттфч-клеток, свидетельствующей о повышении супрессивной активности Т-лимфоцитов, обусловленной циркулирующими в среде обитания животных микроорганизмами. Их цитокиновый профиль характеризовался восстановлением содержания ИЛ-1 β , ФНО- α и ИФН- γ , снижением

уровней ИЛ-2 и ИЛ-4, регулирующих соответственно клеточный и гуморальный иммунитет, с последующим существенным повышением, особенно ИЛ-2, после проведенной иммунизации животных против парвовирусной инфекции, рожи и классической чумы свиней.

Выявленные особенности клеточного иммунитета и цитокинового профиля у свиноматок до опороса и в период лактации позволяют осуществлять оценку состояния их иммунной системы в норме и при патологии, а также контролировать эффективность проводимых профилактических и лечебных мероприятий.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баборенко Е. П., Долганова Е. К., Груздев К. Н. Изучение антигенной активности ассоциированных вакцин против болезни Ауески, репродуктивно-респираторного синдрома и парвовирусной инфекции свиней // *Ветеринария сегодня*. – 2018. – № 2. – С. 13–17; DOI: 10.29326/2304-196X-2018-2-25-13-17.
2. Донник И. М., Смирнов П. Н. Экология и здоровье животных. – Екатеринбург: УТК, 2001. – 331 с.
3. Иммунный статус поросят в хозяйствах промышленного типа / Ю. Н. Федоров, О. А. Верховский, Б. Г. Орлянкин [и др.] // *Ветеринария*. – 2006. – № 6. – С. 18–21.
4. Исследование экспрессии генов цитокинов в процессе культивирования лейкоцитов здоровых доноров / Л. В. Ковальчук, Л. В. Ганковская, М. В. Мезенцева [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2012. – № 2. – С. 60–63.
5. Клиническая иммунология и аллергология / под ред. Л. Йегера; пер. с нем. под ред. Р. В. Петрова. – М.: Медицина, 1990. – Т. 1. – 526 с.
6. Макаров В. В. Факторные болезни // *Российский ветеринарный журнал. С.-х. животные*. – 2017. – № 4. – С. 22–27.
7. Масьянов Ю. Н., Шахов А. Г. Формирование гуморального иммунитета у телят в норме и при патологии // *Доклады РАСХН*. – 2012. – № 5. – С. 40–43.
8. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных / А. Г. Шахов, Ю. Н. Масьянов, М. И. Рецкий [и др.] // *Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Ч. III. Методы исследований по проблемам незаразной патологии у продуктивных животных*. – М.: РАСХН, 2007. – С. 216–292.
9. Молев А. И., Блохин А. А. Микст-инфекции новорожденных телят и основы их профилактики // *Главные эпизоотологические параметры популяции животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф.* – Н. Новгород: БИКАР, 2015. – С. 486–492.
10. Нагоев Б. С., Нагоева М. Х. Клинико-патогенетическая оценка динамики провоспалительных цитокинов у больных бактериальной ангиной // *Инфекционные болезни*. – 2008. – Т. 6, № 2. – С. 42–45.
11. Практическое руководство по обеспечению продуктивного здоровья крупного рогатого скота: учебное пособие / С. В. Шабунин, Ф. И. Васильев, А. Г. Нежданов [и др.]; под ред. С. В. Шабунина, Ф. И. Васильева. – Воронеж: Антарес, 2011. – 216 с.
12. Самохин В. Т. Микроэлементы на сельскохозяйственных угодьях – важнейший экологический фактор обеспечения высокой продуктивности полей и здоровья животных и человека // *Актуальные проблемы болезней обмена веществ у сельскохозяйственных животных в современных условиях: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 40-летию ГНУ ВНИВИПФит*. – Воронеж: Истоки, 2010. – С. 11–34.
13. Сашнина Л. Ю. Эпизоотическая ситуация по респираторным болезням свиней в хозяйствах промышленного типа, этиология и клинико-экспериментальное обоснование применения новых средств их профилактики и терапии: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. – М., 2013. – 54 с.
14. Симбирцев А. С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. – СПб: Фолиант, 2018. – 512 с.
15. Федоров Ю. Н. Иммунодефициты крупного рогатого скота // *Ветеринария*. – 2006. – № 1. – С. 3–6.
16. Шубина Т. П., Чопорова Н. В. Морфология некоторых лимфоидных органов у свиней в постнатальном онтогенезе // *Ветеринарная патология*. – 2015. – № 1 (51). – С. 64–68.
17. Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals / I. P. Oswald, D. E. Marin, S. Bouhet [et al.] // *Food Addit. Contam.* – 2005. – Vol. 22 (4). – P. 354–360; DOI: 10.1080/02652030500058320.

Поступила 27.06.19

Принята в печать 12.08.19

CELLULAR IMMUNITY AND CYTOKINE PROFILE IN PRE-FARROW AND LACTATING SOWS

A. G. Shakhov¹, S. V. Shabunin², L. Yu. Sashnina³, M. I. Adodina⁴, M. Yu. Zhejnes⁵, K. V. Tarakanova⁶, K. O. Kopytina⁷

¹ Chief Researcher, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, RAS Associate Member, FGBRI "VNIVIPAT", Voronezh, Russia, e-mail: A.G.Shakhov@mail.ru

² Director, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, RAS Member, FGBRI "VNIVIPAT", Voronezh, Russia, e-mail: vnivipat@mail.ru; ORCID ID 0000-0002-2689-6998

³ Chief Researcher, Doctor of Science (Veterinary Medicine), FGBRI "VNIVIPAT", Voronezh, Russia, e-mail: L.Yu.Sashnina@mail.ru

⁴ Chief Researcher, FGBRI "VNIVIPAT", Voronezh, Russia, e-mail: vnivipat@mail.ru

⁵ Post-Graduate Student, FGBRI "VNIVIPAT", Voronezh, Russia, e-mail: vnivipat@mail.ru

⁶ Junior Researcher, FGBRI "VNIVIPAT", Voronezh, Russia, e-mail: vnivipat@mail.ru

⁷ Junior Researcher, FGBRI "VNIVIPAT", Voronezh, Russia, e-mail: vnivipat@mail.ru

SUMMARY

Study results of cellular immunity and cytokine profile of commercial pre-farrow and lactating sows are shown. Before farrow, the animals demonstrated physiological immunodeficiency characterized by relative leukopenia and lymphopenia, decreased T-cell number, higher helper/suppressor ratio providing immunological tolerance in dam/fetus system. Their cytokine profile was specified by relatively deficient interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α indicative of immune system suppression and high level of γ -interferon involved in parturition and activation of suppressor cells. Post-farrow sows demonstrated higher cellular immunity involving higher levels of leukocytes, lymphocytes and T-cells as well as tendency of T-lymphocyte helper/suppressor ratio reduction being indicative of T-cells' suppressor activity. The cytokine profile of the sows was specified by the recovered numbers of interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α and γ -interferon, decreased level of interleukin-2 and interleukin-4 that regulate cellular and humoral immunity, respectively as well as their subsequent increase (in particular, interleukin-2) following animal immunization against parvoviral infection and erysipelas on day 7 post farrowing (Parvoruvax vaccine, Merial, France) and against classical swine fever on day 14 post farrowing (culture dry virus-vaccine LK-VNIVIPFIT). This is due to the formation of the cellular and humoral immunity.

Key words: sows, leukocytes, lymphocytes, T- and B-cells, cytokines, immunodeficiency, cellular and humoral immunity.

weaning, regrouping, multiple vaccinations, use of chemotherapeutics and other agents significantly affected the immune status of the animals, their susceptibility to bacterial and viral infections [13, 16].

Within the current scenario assessment and control of food-producing animal immunity become increasingly relevant for the purpose of the recovery of general and immune homeostasis, improvement of the efficacy of preventive and therapeutic measures being taken.

Multiple studies are devoted to the immune status of pigs, in particular of sows, whose immunity status highly influence the offspring quality and viability; however, among the domestic publications there are only singular reports on its separate issues including cytokine profile, which is one of the most significant performance indicators of the immunity.

The study is aimed at the examination of the cellular immunity and cytokine dynamics in sows before farrowing and during lactation period.

MATERIALS AND METHODS

The study was performed in third-parity cross-breed sows (large white + landrace + Duroc) at the commercial pig farm OOO "Vishnevskoye", Verkhnekhavsky Raion, Voronezh Oblast.

After sanitary treatment on day 108 of the pregnancy, the sows were transferred to cleaned and disinfected room and placed in individual pens. The animals were kept under the optimal environment conditions with due regard of their physiological status. The average temperature in the room amounted to 20–22 °C, relative humidity – to 65–70%. During the experiment, the sows were fed with SK-2 feed that according to the manufacturer's guarantees was well-balanced in metabolic (MJ/kg) and net energy (kCal/kg), protein, amino acids, vitamins, macro- and microelements.

The animals were clinically examined before farrowing, during parturition and for 26 days post farrowing.

On day 1, 2 and 3 post farrowing Uteroton was intramuscularly administered to the sows for prevention of postpartum disorders (acute postpartum endometritis, mastitis-metritis-agalactia). On day 7 post farrowing the animals were vaccinated against parvoviral infection and erysipelas with inactivated vaccine Parvoruvax (Merial, France) and on day 14 – against classical swine fever using

INTRODUCTION

Diseases of parent herd and young animals are widespread at the large commercial livestock breeding farms in spite of intensive use of biologicals and chemotherapeutics for their prevention and therapy [1, 11, 13].

Multiple researches demonstrated that immunodeficiency disorders are the basis of the majority of pathological processes [3, 6, 7, 15].

One of the key reasons of the secondary immunodeficiency is poor ecology of the environment associated with the following factors: contamination with nitrogen and sulfur dioxides, carbon oxides, heavy metal salts, nitrates and other xenobiotics; feed contamination with toxins of biological origin (mycotoxins); feed deficiency in biologically active substances (microelements, vitamins); high concentration of potentially pathogenic microorganisms in the animal keeping facilities [2, 9, 12, 17].

The pig industry transfer to the commercial basis involving indoor keeping of large groups of animals, early

Table 1
Cellular immunity in sows

Parameters	Day 5–7 before farrowing	Day post farrowing				
		1	7	14	22	26
Leukocytes, $10^9/l$	9.8 ± 0.73	10.3 ± 0.95	12.2 ± 1.26	$14.2 \pm 0.69^*$	$14.0 \pm 0.77^*$	13.4 ± 0.77
Lymphocytes, %	38.6 ± 2.8	33.3 ± 1.10	36.0 ± 2.73	41.3 ± 2.60	$59.3 \pm 2.15^*$	48.7 ± 1.36
abs, $10^9/l$	3.6 ± 0.34	3.42 ± 0.49	4.2 ± 0.83	5.1 ± 0.66	$7.42 \pm 0.75^*$	$6.2 \pm 0.08^*$
T-cells, %	50.3 ± 1.54	$61.8 \pm 1.32^*$	$63.0 \pm 0.91^*$	$59.3 \pm 1.11^*$	53.0 ± 1.11	45.7 ± 0.65
abs, $10^9/l$	4.9 ± 0.35	6.3 ± 0.53	$8.6 \pm 0.78^*$	8.4 ± 0.75	6.7 ± 0.91	6.2 ± 0.49
Suppressor T-cells, %	16.0 ± 0.45	$21.5 \pm 0.64^*$	$21.5 \pm 1.04^*$	17.5 ± 0.96	$11.3 \pm 1.11^*$	$8.5 \pm 1.04^*$
abs, $10^9/l$	0.79 ± 0.07	1.32 ± 0.14	1.69 ± 0.39	$1.5 \pm 0.12^*$	0.81 ± 0.09	0.55 ± 0.009
Helper T-cells, %	39.3 ± 1.05	43.8 ± 1.11	42.8 ± 0.85	39.5 ± 1.41	$21.3 \pm 1.93^*$	$18.5 \pm 1.41^*$
abs, $10^9/l$	2.0 ± 0.16	2.7 ± 0.32	$4.1 \pm 0.39^*$	3.4 ± 0.37	1.5 ± 0.31	$1.2 \pm 0.14^*$
Suppressor T-cells/ Helper T-cells	$2.4:1 \pm 0.07$	$2:1 \pm 0.001^*$	$2:1 \pm 0.09^*$	$2.3:1 \pm 0.55$	$1.9:1 \pm 0.41$	$2.2:1 \pm 0.15$
B-cells, %	23.7 ± 1.28	21.8 ± 0.85	23.0 ± 0.91	20.3 ± 0.63	18.0 ± 0.91	$14.8 \pm 1.11^*$
abs, $10^9/l$	2.3 ± 0.24	2.3 ± 0.29	2.8 ± 0.63	2.9 ± 0.27	2.3 ± 0.32	2.0 ± 0.27

* $p < 0.001$ against the pre-farrow value.

cultural dry virus vaccine LK-VNIIVVIM (OAO Pokrov Biofactory). 5–7 days before parturition and on days 1, 7, 14, 22 and 26 post farrowing six sows were bled for cell immunity and cytokine profile examination.

Cellular immunity parameters included leukocytes, T- and B-cells, suppressor T-cells, helper T-cells, ratio of suppressor T-cells and helper T-cells, and they were examined according to the Methodical guidelines on animal immune status assessment and correction [8].

Interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-2 (IL-2), interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α), γ -interferon (IFN- γ) were determined in blood sera using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) followed by result reading with Uniplan™ according to the test-kit manufacturer's instructions.

The obtained data were statistically processed using Statistica v6.1 software, confidence was estimated using Student's t-test.

RESULTS AND DISCUSSION

During the immunological studies, all sows demonstrated normal clinical parameters.

Examination of the cellular response demonstrated that before farrowing the sows had relatively low level of leukocytes playing the indispensable role in protection against infections – $(9.8 \pm 0.73) \times 10^9/l$, and after farrowing this level increased against the pre-farrow level: by 5.1% on day 1, by 24.5% on day 7, by 44.9% on day 14, by 42.6% on day 22 and by 36.7% on day 26 (Table 1).

Similar dynamics (excluding day 1 post farrowing) was also demonstrated for absolute lymphocyte count (ALC), which are key immune cells in charge of all immune responses. ALC was not high in sows before the parturition $(3.6 \pm 0.34) \times 10^9/l$, after farrowing ALC increase was reported on day 7 and amounted to 16.7%, on day 14 it increased by 41.7%, on day 22 – 2.1-fold and on day 26 – by 72.2%. Relative WBC count decreased by 13.7 and 6.7% on day 1

and 7 post farrowing and on day 14, 22 and 26 it increased by 7.0, 53.6 and 26.2%, respectively.

Before farrowing absolute T-cell count in sows amounted to $(4.9 \pm 0.35) \times 10^9/l$, and after parturition at all test time points it increased by 28.6, 75.5, 71.4, 36.7 and 26.5% as well as relative T-cell count: on day 1 – by 21.8%, on day 7 – by 25.2%, on day 14 – by 17.9% and on day 22 – by 5.4%. Herewith, the tendency of relative T-cell count decrease was reported starting from day 14 of lactation and on day 26 this parameter was 9.1% lower as compared to pre-farrow sows.

Absolute and relative counts of suppressor T-cells inhibiting immune response and responsible for micro-organism-associated immunosuppression and helper T-cells being pivotal for the development of humoral (antibody synthesis) and cellular immunity and macrophage activation changed after farrowing. Thus, absolute count of suppressor T-cells in sows was by 67.1%, 2.1 times, by 89.9% and 2.5 higher on day 1, 7, 14 and 22 after farrowing, respectively, but was lower by 30.4% on day 26 after farrowing as compared to that one before farrowing. Their relative count was higher by 34.3% on day 1 and day 7 after farrowing, by 9.4% on day 14 after farrowing, by 29.4% on day 22 after farrowing and 1.9 times higher on day 26 after farrowing as compared to that one before farrowing.

Absolute count of helper T-cells was higher by 35%, 2.1 and 1.7 times higher on day 1, 7 and 14 after farrowing and decreased by 25.0% and 40.0% on day 21 and 26 after farrowing as compared to that one before farrowing. Relative count of helper T-cells was higher by 11.5% and 8.4% on day 1 and 7 after farrowing and similar on day 14 after but was lower by 45.8 and 52.9% on day 22 and 26 after farrowing, respectively, as compared to that one before farrowing.

T-lymphocyte helper/suppressor ratio was the highest $(2.4:1 \pm 0.07)$ in sows before farrowing that was indicative of relatively low suppressor activity of T-lymphocytes providing immunological tolerance in dam-fetus system.

Table 2
Cytokine profiles in sows

Content, pg/ml	5–7 days before farrowing	Days after farrowing				
		1	7	14	22	26
IL-1 β	10.9 $\pm$ 0.30	11.2 $\pm$ 0.19	11.0 $\pm$ 0.29	11.3 $\pm$ 0.1	12.0 $\pm$ 0.83	11.4 $\pm$ 0.15
IL-2	11.0 $\pm$ 0.94	7.6 $\pm$ 0.23	10.6 $\pm$ 0.94	12.2 $\pm$ 1.53	49.7 $\pm$ 3.92**	15.5 $\pm$ 0.87 [#]
IL-4	10.7 $\pm$ 1.69	6.0 $\pm$ 0.85	6.3 $\pm$ 0.66	4.9 $\pm$ 0.34	10.6 $\pm$ 0.92 [#]	9.6 $\pm$ 0.85
IL-10	21.0 $\pm$ 0.32	20.7 $\pm$ 0.59	22.8 $\pm$ 1.59	22.4 $\pm$ 1.08	21.5 $\pm$ 0.86	21.4 $\pm$ 0.35
TNF- α	3.6 $\pm$ 0.07	3.9 $\pm$ 0.37	4.0 $\pm$ 0.23	3.5 $\pm$ 0.12	3.7 $\pm$ 0.12	4.3 $\pm$ 0.17*
IFN- γ	96.6 $\pm$ 15.29	70.3 $\pm$ 10.49	15.3 $\pm$ 1.26**	18.4 $\pm$ 3.21*	17.3 $\pm$ 1.02*	11.1 $\pm$ 1.73*

* $p < 0.001$ as compared to pre-farrow values;[#] $p < 0.001$ as compared to value on previous day of testing.

After farrowing T-lymphocyte helper/suppressor ratio decreased in sows on all days of testing that evidenced the increase in suppressor activity of T-lymphocytes mediated by microorganisms circulating in the sows' environment.

Absolute count of B-lymphocytes responsible for inducing immune response including specific antibodies development changed significantly in sows before and after farrowing. B cell level increased by 21.7 and 26.1% on day 7 and 14, respectively, and decreased by 13.0% on day 26 after farrowing as compared to that one before farrowing. Relative B-cell count decreased by 8.0%, 3.0%, 14.3%, 24.1% and 37.6% on day 1, 7, 14, 22 and 26 after farrowing respectively, as compared to that one before farrowing.

Results of tests of animals for their immunity before and after farrowing showed the physiological immunodeficiency in pregnant sows required for continued pregnancy and successful pregnancy outcome. It was characterized with decreased leucocyte count and absolute and relative count of lymphocytes, T lymphocytes and increased helper/suppressor cell ratio as compared to that ones after farrowing that was indicative of reduced suppressor activity of T-lymphocytes, required for inevitable dam-fetus conflict prevention.

Insignificant changes in numbers of two out of four tested pro-inflammatory cytokines, IL-1 β and TNF- α , produced by phagocytes and dendritic cells and involved in immune response induction, inflammation and cell regeneration were detected when sows were tested for their cytokine profiles (Table 2).

IL-1 β levels in sows on all days of testing after farrowing were slightly higher (1.0 to 10.0%) that that ones in sows before farrowing.

Similar positive dynamics in TNF- α level (2.8 to 19.4%) were detected in the sows during lactating period. Immune suppression was observed in the sows demonstrating relatively insufficient IL-1 β , TNF- α cytokine levels at the end of their pregnancy period [10].

Levels of pro-inflammatory interleukin, IL-10, synthesized by type 2 helper T cells (Th-2) and cytotoxic T-lymphocytes involved in humoral immunity induction and having cytotoxic effect [4] were almost similar in sows before and after farrowing.

Levels of IL-2 produced by type 1 helper T-lymphocytes (Th-1) and cytotoxic T-lymphocytes and responsible for cell immunity development significantly changed [4].

In sows IL-2 counts decreased by 30.9 and 3.6% on day 1 and day 7 days after farrowing, respectively, but became by 10.9%, 4.5 times and 40.9% higher on day 14, 22 and 26 after farrowing, respectively, as compared to that ones before farrowing.

Level of IL-4, secreted by Th-2 and responsible for humoral immunity development was by 45.9%, 41.4% and 2.2 times lower on day 1, 7 and 14 after farrowing but demonstrated 2.2 times increase on day 22 as compared to the previous level and then decreased by 10.3% on day 26 after farrowing.

Decrease in IL-2 and IL-4 counts in sows after farrowing appeared to be associated with termination of fetal antigen effect on sow immune competent cells synthesizing the said interleukins.

Significant increase in IL-2 and IL-4 levels on day 22 after farrowing was indicative of cellular and humoral immunity development after vaccination of sows against parvovirus infection, erysipelas and classical swine fever on day 7 and 14 after farrowing. Therewith, the increase was the highest in IL-2 count, cytokine regulating cell immunity developed by animals after administration of live virus vaccine against classical swine fever.

Level of IFN- γ synthesized by Th-1, cytotoxic T lymphocytes and natural killer cells and being the key cytokine for cellular immunity and an inhibitor for humoral adaptive immunity was the highest in sows before and on day 1 after farrowing.

Researchers [14] showed that count of IFN- γ involved in partition initiation by activation of synthesis of E2 и F prostaglandins stimulating uterine muscle contractions and enhancing oxytocin receptor activity in uterine muscles increased before parturition. Furthermore, high IFN- γ levels inhibited antigen-dependent T- and B-lymphocyte proliferation and activated suppressor cells [5]. Relatively high IFN- γ level in sows after farrowing promoted involution.

IFN- γ number became 6.3 times lower on day 7; 5.3 times lower on day 14; 5.6 times lower on day 22 and 8.7 times lower on day 26 after farrowing.

Tests of sows for their cytokine profiles before farrowing showed relative deficiency of IL-1 β and TNF- α , pro-inflammatory cytokines, resulting in immune suppression, high level of IFN- γ involved in partition initiation and suppressor cell activation as well during lactation period decrease in IL-2 and IL-4 levels within the first seven days

and on day 14 after farrowing, respectively, followed by their subsequent significant increase associated with cell and humoral immunity development after vaccination of sows against parvovirus infection erysipelas and classical swine fever.

CONCLUSION

Physiological immunodeficiency characterized with relative leukocyte- and lymphocytopenia, low T-lymphocyte numbers, higher helper/suppressor cell ratio providing immunological tolerance in dam-fetus system was detected in sows before farrowing. Sows' cytokine profiles demonstrated relative IL-1 β and TNF- α deficiency resulting in immunosuppression and high levels of IFN- γ involved in partition and activating suppressor cells.

Increased cellular immunity level in sows after farrowing was associated with increase in leukocyte, lymphocyte, T-lymphocyte counts and with decreasing trend in helper/suppressor cell ratio that was indicative of enhanced suppression T-lymphocyte activity mediated by microorganisms circulating in the sows' environment. After vaccination of sows against parvovirus infection erysipelas and classical swine fever their cytokine profiles demonstrated restoration of IL-1 β , TNF- α and IFN- γ production and decrease in IL-2 and IL-4 levels, regulating cellular and humoral immunity, respectively, followed by their significant increase (especially IL-2).

Identified features of cellular immunity and cytokine profile in sows before farrowing and within lactation period allow assessment of immune system state in normal sows and in sows with disorders as well as control of taken preventive and curative measures for their effectiveness.

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

REFERENCES

1. Baborenko Ye. P., Dolganova Ye. K., Gruzdev K. N. Testing of combined vaccines against Aujeszky's disease, porcine reproductive and respiratory syndrome and porcine parvovirus infection for their antigenicity [Izuchenie antigennoj aktivnosti asociirovannykh vakcin protiv bolezni Aueski, reproduktivno-respiratornogo sindroma i parvovirusnoj infekcii svinej]. *Veterinary Science Today*. 2018; 2: 13–17; DOI: 10.29326/2304-196X-2018-2-25-13-17 (in Russian).
2. Donnik I. M., Smirnov P. N. Ecology and animal health [Ekologiya i zdorov'e zhivotnyh]. Yekaterinburg: UTK, 2001 (in Russian).
3. Immune status of pigs in industrial pig establishments [Immunnyj status porosyat v hozyajstvakh promyshlennogo tipa]. Yu. N. Fyodorov, O. A. Verkhovsky, B. G. Orlyankin [et al.]. *Veterinariya*. 2006; 6: 18–21 (in Russian).
4. Examination of cytokine gene expression during cultivation of leukocytes from healthy donors [Issledovanie ekspressii genov citokinov v processe kul'tivirovaniya lejkcitov zdorovykh donorov]. L. V. Kovalchuk, L. V. Gankovskaya, M. V. Mezentsseva [et al.]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology* [Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii]. 2012; 2: 60–63 (in Russian).
5. Clinical immunology and allergy [Klinicheskaya immunologiya i allergologiya]. ed. by L. Jäger, translated from German, ed. by R. V. Petrov. M.: Meditsina, 1990 (in Russian).
6. Makarov V. V. Factorial diseases [Faktornye bolezni]. *Russian veterinary journal. S.-kh. zhivotnye*. 2017; 4: 22–27 (in Russian).
7. Masyanov Yu. N., Shakhov A. G. Humoral immunity development in normal calves and in calves with disorders [Formirovanie gumoral'nogo immuniteta u telyat v norme i pri patologii]. *Reports to the Russian Academy of Agricultural Sciences* [Doklady Rossijskoj akademii sel'skhozajstvennykh nauk]. 2012; 5: 40–43 (in Russian).
8. Methodical guidelines for animal immune status assessment and correction [Metodicheskie rekomendacii po ocenke i korrekcii immunnogo statusa zhivotnyh]. A. G. Shakhov, Yu. N. Masyanov, M. I. Retsky [et al.]. *New test methods in veterinary field. P. III. Methods of testing for non-contagious pathologies in food-producing animals. M.: Russian Academy of Agricultural Sciences*, 2007 (in Russian).
9. Molev A. I., Blokhin A. A. Mixed infections in newly born calves and basic principles for their prevention [Mikst-infekcii novorozhdennykh telyat i osnovy ih profilaktiki]. *Main epidemiological characteristics of animal population: Proceedings of the International Scientific Practical Conference*. N. Novgorod: BIKAR, 2015 (in Russian).
10. Nagoyev B. S., Nagoyeva M. Kh. Clinico-pathogenetic assessment of pro-inflammatory cytokine dynamics in patients with bacterial tonsillitis [Kliniko-patogeneticheskaya ocenka dinamiki provospalitel'nykh citokinov u bol'nykh bakterial'noj anginoj]. *Infectious Diseases*. 2008; 6 (2): 42–45 (in Russian).
11. Guidelines for maintaining cattle performance: textbook [Prakticheskoe rukovodstvo po obespecheniyu produktivnogo zdorov'ya krupnogo rogatogo skota: uchebnoe posobie]. S. V. Shabunin, F. I. Vasilevich, A. G. Nezhdanov [et al.]; ed. by S. V. Shabunin, F. I. Vasilevich. Voronezh: Antares, 2011. (in Russian).
12. Samokhin V. T. Microelements in agricultural lands – a key ecological factor for high efficiency of arable lands and animal and human health [Mikroelementy na sel'skhozajstvennykh ugod'yah – vazhnejshij ekologicheskij faktor obespecheniya vysokoj produktivnosti polej i zdorov'ya zhivotnyh i cheloveka]. *Current aspect of metabolic disorders in livestock animals. International Scientific and Practical Conference devoted to the 40th anniversary of SSI VNIVPFT*. Voronezh: Istoki, 2010: 11–34 (in Russian).
13. Sashina L. Yu. Epidemic situation on porcine respiratory diseases at the industrial pig establishments, etiology and clinical-experimental justification for application of new preventive and therapeutic tools [Epidemiologicheskaya situatsiya po respiratornym boleznyam svinej v hozyajstvakh promyshlennogo tipa, etiologiya i kliniko-eksperimental'noe obosnovanie primeneniya novykh sredstv ih profilaktiki i terapii]: author's abstract. PhD theses (Veterinary medicine). M., 2013 (in Russian).
14. Simbirtsev A. S. Role of cytokines in human disease pathogenesis and therapy [Citokiny v patogeneze i lechenii zabolevanij cheloveka]. S-Pb: Foliant, 2018 (in Russian).
15. Fyodorov Yu. N. Immunodeficiency in cattle [Immunodeficyt krupnogo rogatogo skota]. *Veterinariya*. 2006; 1: 3–6 (in Russian).
16. Shubina T. P., Choporova N. V. Morphology of some lymphoid organs of pigs in postnatal ontogenesis [Morfologiya nekotorykh limfoidnykh organov u svinej v postnatal'nom ontogeneze]. *Veterinarnaya patologiya*. 2015; 1 (51): 64–68 (in Russian).
17. Immunotoxicological risk of mycotoxins for domestic animals. I. P. Oswald, D. E. Marin, S. Bouhet [et al.]. *Food Addit. Contam.* 2005; 22 (4): 354–360; DOI: 10.1080/02652030500058320.

Submitted on 27.06.19

Approved for publication on 12.08.19

ВЛИЯНИЕ УМЕРЕННО ВИРУЛЕНТНОГО ВИРУСА АЧС НА ПРОДУКЦИЮ ИНТЕРЛЕЙКИНА-10

А. С. Першин¹, И. В. Шевченко², А. С. Иголкин³, Е. В. Аронова⁴, Н. Н. Власова⁵

¹ Старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: pershin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5099-3050

² Научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shevchenko@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-6482-7814

³ Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: igolkin_as@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5438-8026

⁴ Старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: aronova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-2072-6701

⁵ Главный научный сотрудник, доктор биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-8707-7710

РЕЗЮМЕ

Характерной особенностью вируса африканской чумы свиней является способность избегать иммунного ответа организма хозяина, поражая макрофаги и размножаясь в них. Кроме того, специфические антитела к вирусу африканской чумы свиней его полностью не нейтрализуют. Важными факторами в протекании различных инфекционных вирусных патологий являются цитокины. Вирулентность изолятов вируса африканской чумы свиней может быть обусловлена возможностью регуляции экспрессии цитокинов макрофагами. Так, при сравнении продукции цитокинов макрофагами *in vitro* и *in vivo* установлено, что заражение низковирулентными изолятами вируса приводит к иммунному ответу с преобладанием цитокинов, вовлеченных в клеточный иммунитет, такими как ИНФ-α и ИЛ-12p40, в отличие от заражения высоковирулентными изолятами. Целью данной работы являлось изучение влияния вируса африканской чумы свиней на продукцию ИЛ-10 – плеiotропного цитокина, ингибирующего синтез цитокинов и проявляющего сильный противовоспалительный эффект. Для этого проводили экспериментальное заражение 12 поросят адаптированным к переносимой клеточной культуре изолятом вируса африканской чумы свиней Vero25

внутримышечно в дозе 10 ГАДЕ/гол. с последующим контрольным заражением выживших животных референтным изолятом вируса Arm 07 в дозе 1000 ГАДЕ/гол. В течение всего опыта проводили термометрию и отбор проб крови для получения сыворотки. Определение содержания ИЛ-10 в сыворотке крови проводили с использованием тест-систем Invitrogen (Thermo Fisher, США). У погибших животных после заражения умеренно вирулентным вирусом в сыворотке крови наблюдался более высокий уровень ИЛ-10 (15,8–173 пг/мл) по сравнению с выжившими поросятами (4–5 пг/мл). Зависимости скорости появления специфических антител от уровня ИЛ-10 в сыворотке крови не установлено. Заметного влияния уровня содержания ИЛ-10 в сыворотке крови до заражения на выживаемость животных не установлено. Для установления причинно-следственной связи необходимы дальнейшие исследования, включающие изучение экспрессии различных цитокинов при заражении как низко-, так и высоковирулентными изолятами вируса.

Ключевые слова: африканская чума свиней, вирулентность, иммунология, интерлейкин-10, биопроба

UDC 608.2:578.8:619:616.98:616-079.4:632.938:57.083.3:577.112

EFFECTS OF MODERATELY VIRULENT AFRICAN SWINE FEVER VIRUS ON INTERLEUKIN-10 PRODUCTION

A. S. Pershin¹, I. V. Shevchenko², A. S. Igolkin³, Ye. V. Aronova⁴, N. N. Vlasova⁵

¹ Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: pershin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5099-3050

² Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shevchenko@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-6482-7814

³ Head of Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: igolkin_as@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5438-8026

⁴ Senior Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: aronova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-2072-6701

⁵ Senior Researcher, Doctor of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-8707-7710

SUMMARY

A characteristic feature of African swine fever virus (ASFV) is the ability to escape from host immune response, affecting macrophages and replicating in them. Besides, ASFV-specific antibodies do not completely neutralize the virus. Cytokines are important factors for various viral infection pathologies. The virulence of ASFV isolates may depend on the capacity to regulate cytokine expression by macrophages. Thus, when comparing *in vitro* and *in vivo* cytokine production by macrophages, it was established that infection with low virulent virus isolates leads to an immune response with a predominance of cytokines involved in cellular immunity, such as INF-α and IL-12p40, as compared with infection with highly virulent isolates. The aim of this paper was to study the effect of African swine fever virus on the production of IL-10, a pleiotropic cytokine that inhibits synthesis of cytokines and shows a strong anti-inflammatory effect. For this, 12 piglets were experimentally infected intramuscularly with a continuous cell culture-adapted ASFV isolate Vero25 at a dose of 10 HA₅₀ per

animal followed by control infection of surviving animals with the reference virus isolate Arm 07 at a dose of 1,000 HA₅₀ per animal. Temperature measurements were taken and blood sampling to obtain serum was conducted during the experiment. IL-10 amount in blood sera was determined using Invitrogen test systems (Thermo Fisher, USA). A higher IL-10 level (15.8–173 pg/ml) was observed in blood sera of dead animals infected with a moderately virulent virus, as compared with surviving pigs (4–5 pg/ml). No correlation between the speed of appearance of specific antibodies and IL-10 serum levels has been established. No noticeable effect of the IL-10 serum level prior to infection on the survival rate of animals has been observed. Further studies are needed to establish a causal relationship, including study of the expression of various cytokines during infection with both low- and highly virulent virus isolates.

Key words: African swine fever, virulence, immunology, interleukin-10, bioassay.

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) – контагиозная вирусная болезнь, поражающая домашних свиней и диких кабанов, характеризующаяся проявлениями геморрагической лихорадки. АЧС у животных может протекать в формах от сверхострой до инаппарантной. Летальность при заражении высоковирулентными изолятами достигает 100%. На сегодняшний день эффективных мер лечения и специфической профилактики АЧС не существует [6, 10, 12, 14].

Россия стационарно неблагополучна по АЧС с момента заноса возбудителя на ее территорию в 2007 г. Основной экономический ущерб от болезни складывается из затрат на вынужденное уничтожение животных и ликвидация вспышек, а также затрат, к которым приводят ограничения, накладываемые на внутреннюю и международную торговлю. Отсутствие доступных для использования в свиноводстве специфических средств профилактики и лечения болезни указывает на необходимость разработки данных препаратов. Для этого требуется расширенное изучение факторов, влияющих на иммунный ответ. Регуляция иммунного ответа цитокинами играет важную роль в протекании различных патологических процессов при вирусной инфекции [28]. Несбалансированный иммунный ответ и избыточная продукция провоспалительных цитокинов приводит к повреждению тканей организма хозяина. Это следует учитывать при вакцинации животных аттенуированными вирусами.

Одной из стратегий макроорганизма, направленных на предотвращение таких последствий иммунного ответа, является высвобождение иммуносупрессивного цитокина – интерлейкина-10 (ИЛ-10) [22]. Интерлейкин-10 – это плейотропный цитокин, являющийся одним из самых важных цитокинов, регулирующим иммунитет и впервые охарактеризованным в качестве фактора, ингибирующего синтез цитокинов. Результатом действия ИЛ-10 является сильный противовоспалительный эффект.

Считается, что программирование фенотипа макрофагов во время иммунного ответа обуславливается типом доминирующих цитокинов. При стимуляции гамма-интерфероном (ИНФ- γ) и липополисахаридами поляризуются макрофаги типа M1, которые запускают Th1-клеточный ответ и помогают в защите от внутриклеточных патогенов, уничтожая пораженные клетки.

В противоположность этому активация через ИЛ-4 или ИЛ-13 индуцирует макрофаги типа M2, которые продуцируют высокий уровень противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и связаны с механизмами иммуносупрессии и заживления ран [25]. Помимо макрофагов, ИЛ-10 продуцирует T- и B-клетки, а также тучные клетки, кератиноциты и некоторые опухолевые клеточные линии.

Основной эффект ИЛ-10 заключается в ингибировании активности НК-клеток (натуральных киллеров) и T-клеток, продукции цитокинов клетками Th1 (Т-хелперами) и мононуклеарными клетками периферической крови, а также влиянии на активность макрофагов. В макрофагах ИЛ-10 ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли альфа (ФНО- α) и ИЛ-6 [17, 29]. С другой стороны, ИЛ-10 оказывает иммуностимулирующий эффект на B-клетки. Добавление ИЛ-10 к B-лимфоцитам приводит к их пролиферации и высокому уровню продукции иммуноглобулинов в результате трансформации B-клеток

в плазматические клетки [16]. Иммуносупрессивные функции ИЛ-10 свидетельствуют о его возможном клиническом использовании для подавления отторжения трансплантированных органов. Кроме того, ИЛ-10 может ингибировать индуцированную антигеном продукцию ИНФ- γ НК-клетками.

В исследованиях показано, что блокада сигнального пути ИЛ-10 во время вакцинации увеличивает индукцию цитотоксического T-клеточного иммунного ответа [23]. Также показано, что у трансгенных мышей с дефицитом ИЛ-10 происходит избыточная продукция воспалительных цитокинов, что приводит к хроническому воспалению [5, 18, 21, 26, 32].

Регуляция продукции цитокинов и иммунного ответа при заражении вариантами вируса АЧС различной вирулентности изучена не полностью. При сравнении продукции цитокинов макрофагами *in vitro* и *in vivo* установлено, что заражение низковирулентными изолятами вируса приводит к иммунному ответу с преобладанием цитокинов, вовлеченных в клеточный иммунитет, такими как ИНФ- α и ИЛ-12p40, в отличие от заражения высоковирулентными изолятами [30]. Другие исследования указывают на то, что заметной разницы в выработке гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-12 и ФНО- α моноцитами и макрофагами, инфицированными как авирулентным, так и вирулентным штаммом, не обнаружено [9].

S. Gil и соавт. показали, что заражение низковирулентными изолятами вируса АЧС сопровождается значительным увеличением экспрессии и более ранними сроками продукции провоспалительных и индуцирующих клеточный иммунный ответ цитокинов. Этого не происходит при заражении высоковирулентными изолятами. Таким образом, вирулентность изолятов вируса АЧС может обуславливаться возможностью регуляции экспрессии цитокинов макрофагами [13].

Целью данной работы явилось изучение влияния вируса АЧС на продукцию ИЛ-10 в организме свиньи.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальное заражение проводили на поросятах массой тела 15–20 кг, полученных из благополучного по инфекционным болезням хозяйства Владимирской области. Животных содержали в изолированном боксе виварного комплекса ФГБУ «ВНИИЗЖ», отвечающего требованиям работы с ПБА II группы патогенности (BSL-3). В течение 9-суточного карантина исследовали сыворотку крови животных для подтверждения серонегативного статуса к возбудителям основных инфекционных болезней свиней. 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.

Заражение проводили адаптированным к перевиваемой клеточной культуре изолятом вируса АЧС Vero25 внутримышечно в дозе 10 ГАДЕ/гол. Вирусосодержащей суспензией заражали 12 поросят, еще 2 головы содержали совместно с инфицированными поросятами в качестве контроля контактности. Контрольное заражение проводили референтным изолятом АЧС Arm 07 в дозе 1000 ГАДЕ/гол.

Ежедневно проводили термометрию и наблюдение за животными. В разные сроки после заражения

Таблица

Результаты обнаружения генома вируса АЧС и противовирусных антител

Номер животного	Дни после заражения															
	3		7		10		14		21		28		42 (12 КЗ)		50 (20 КЗ)	
	ПЦР	ИФА	ПЦР	ИФА	ПЦР	ИФА	ПЦР	ИФА	ПЦР	ИФА	ПЦР	ИФА	ПЦР	ИФА	ПЦР	ИФА
1К	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–				
2К	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–				
3	±	–	+	–	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+	±	+
4	–	–	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+
5	–	–	+	–	+	–										
6	–	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+
7	–	–	+	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+
8	–	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+
9	–	–	+	–	+	–										
10	–	–	±	–	+	–	–	+	±	+	–	+	–	+	±	+
11	±	–	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+
12	–	–	+	–	+	–	+	–								
13	±	–	+	–	+	–	+	+								
14	±	–	+	–	+	+	+	+								

КЗ – дней после контрольного заражения;

ПЦР: «+» – пороговый цикл (Ct) соответствует положительному результату;

«–» – Ct соответствует отрицательному результату; «±» – Ct соответствует сомнительному результату;

ИФА: «+» – процент позитивности соответствует положительному результату;

«–» – процент позитивности соответствует отрицательному результату.

у поросят отбирали пробы крови для получения сыворотки. Сыворотки отделяли из цельной крови через 18 ч после отбора и замораживали до проведения исследования.

Для определения содержания ИЛ-10 в сыворотке крови использовали тест-систему Invitrogen (Thermo Fisher, США) согласно инструкции производителя. Аналитическая чувствительность тест-системы – от 3 пг/мл.

Для определения способности изолята вируса АЧС вызвать выработку антител и сроков их обнаружения проводили иммуноферментный анализ (ИФА) с помощью набора Ingezim PPA Compas K3 (Ingenasa, Испания) в соответствии с инструкцией производителя.

Эффективность заражения по наличию генетического материала вируса АЧС в крови определяли с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Для постановки реакции использовали «Тест-систему для диагностики африканской чумы свиней методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени» (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На 8–15-е сутки после заражения пять из двенадцати зараженных животных пали с проявлением клинической и патологоанатомической картины АЧС. Семь зараженных животных выжило, при этом у некоторых наблюдалось только незначительное повышение температуры, что указывает на умеренно вирулентные свойства изолята. Оба контрольных поросенка выжили

без проявления клинических признаков АЧС, что говорит об отсутствии контактной передачи им вирулентного вируса, что подтверждено результатами ПЦР (табл.).

Контрольное заражение семи выживших и двух контрольных поросят провели через 30 суток после начала опыта. На 6–7-е сутки после заражения контрольные поросята пали с признаками, характерными для АЧС, что говорит об отсутствии у них протективного иммунитета.

До заражения животные имели различный уровень содержания ИЛ-10 в сыворотке крови. У трех из пяти павших животных уровень исследуемого цитокина находился на умеренно высоком уровне – 15–25 пг/мл (рис.). У двух павших животных его уровень до заражения составлял 5–8 пг/мл, что не позволяет подтвердить вывод J. Post и соавт. [20] о влиянии содержания высокого уровня ИЛ-10 до заражения на выживаемость. Однако при делении животных на группы, включающие погибших и выживших, прослеживается зависимость между уровнем содержания ИЛ-10 в сыворотке крови после заражения и гибелью животных. У выживших животных уровень содержания ИЛ-10 находился на уровне нижней границы чувствительности используемой тест-системы (4–5 пг/мл). У всех пяти павших животных в пробах, полученных перед гибелью, обнаружено более высокое содержание ИЛ-10 (15,8–173 пг/мл).

Уровень ИЛ-10 у одного контрольного животного незначительно повысился на 14-е сутки после начала опыта (29,8 пг/мл), достигнув к 28-м суткам значения 163,4 пг/мл. При этом геном вируса АЧС, а также

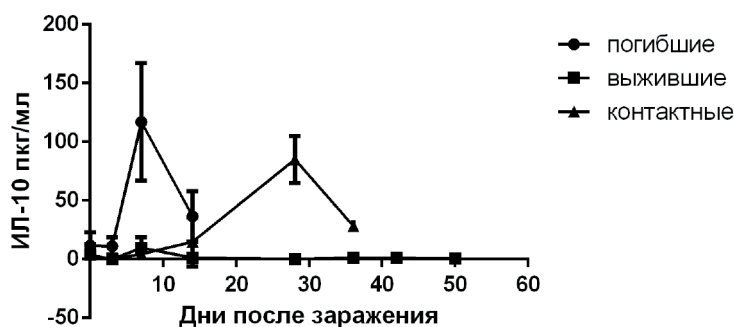


Рис. Динамика выявления ИЛ-10 в сыворотке крови поросят

антитела к нему на протяжении всего эксперимента до момента контрольного заражения в крови поросят отсутствовали, что указывает на влияние других факторов, например, иной инфекционной патологии.

Второе контрольное животное до контрольного заражения имело низкий уровень ИЛ-10 (7,1 пг/мл), который после заражения повысился, достигнув перед гибелью значения 28,3 пг/мл. Животные погибли с клиническими признаками и патологоанатомическими изменениями, характерными для АЧС.

Среди многообразия путей воздействия ИЛ-10 на организм можно предположить, что влияние на патогенез АЧС в основном оказывают:

Ингибирование продукции ФНО- α моноцитами и макрофагами. Начало клинической картины АЧС сопровождается провоспалительной активацией моноцитов и макрофагов. Активированные моноциты и макрофаги секретируют широкий спектр медиаторов, включая провоспалительные цитокины, среди которых одним из важнейших является ФНО- α [2, 19].

ФНО- α может индуцировать васкулярные изменения, включающие вазодилатацию и увеличение проницаемости сосудов, а также изменять коагуляционный статус васкулярного эндотелия. Увеличение продукции ФНО- α совместно с ИЛ-1 α , ИЛ-1 β и ИЛ-6 – один из механизмов, участвующих в развитии лихорадки, поражении сосудов и изменениях в лимфоидных структурах [8].

Различными исследователями установлено, что инфекция АЧС ассоциирована с продукцией ФНО- α , и, вероятно, данный цитокин регулирует главные клинические проявления болезни. Инфицирование свиней макрофагов вирусом АЧС приводит к увеличению экспрессии ФНО- α *in vitro*. Кроме того, высокий уровень ФНО- α обнаруживается в сыворотке крови инфицированных вирусом АЧС животных. При заражении высоковирулентным вирусом значительная продукция ФНО- α наблюдается уже на ранних сроках [27].

Кроме того, при АЧС поражаются легочные внутрисосудистые макрофаги. Их инфицирование приводит к активации и экспрессии ИЛ-1 α и ФНО- α . Данные цитокины участвуют в механизме развития интерстициального отека и формировании микротромбов в капиллярах альвеолярных перегородок, это играет ведущую роль в появлении поражений легких [2, 7, 31].

Повышение уровня ИЛ-10 на конечной стадии острой инфекции АЧС является результатом включения противовоспалительного ответа [27]. Ингибирующее действие ИЛ-10 на ФНО- α и ИЛ-1 критично для его противовоспалительной активности, так как эти цитокины имеют синергетическое действие на воспаление,

усиливая его через индукцию простагландинов, фактора активации тромбоцитов и других цитокинов [4]. ИЛ-10 не только индуцирует ингибирование этих эффекторов, но и усиливает экспрессию их антагонистов [22].

Геморрагический синдром при АЧС наносит серьезные поражения организму [1]. Ингибирование ФНО- α на поздних стадиях острой АЧС является фактором, который должен приводить к более благоприятному прогнозу, как показано J. Post и соавт. [20]. Однако в данном эксперименте высокий уровень ИЛ-10 имели все павшие животные, вероятно, из-за способности ИЛ-10 оказывать другие эффекты на иммунную систему.

Участие ИЛ-10 в регуляции пролиферации и дифференциации В-клеток, что приводит к более высокому уровню продукции иммуноглобулинов.

Высокий уровень иммуноглобулинов в сыворотке приводит к высокой частоте связывания рецепторов цитотоксических клеток с Fc-фрагментами антител, адсорбированных на поверхности инфицированных клеток.

Ранее было продемонстрировано, что инфицирование вирусом АЧС может приводить к чрезмерной стимуляции В-лимфоцитов как *in vitro*, так и *in vivo* [3, 33], что в отсутствие эффекта нейтрализации вируса антителами способно усилить диссеминацию вируса в организме и привести к развитию антителозависимой клеточной цитотоксичности. Так, в отдельных случаях у животных, получавших специфические антитела к вирусу АЧС до заражения, отмечают более стремительное развитие клинических признаков болезни, а также более выраженные патологоанатомические изменения, так как антитела могут оказывать потенцирующий эффект на проникновение вируса в целевые клетки макрофагального ряда [1]. Таким образом, по-видимому, антитела могут ускорять гибель либо выздоровление животного, в зависимости от способности других составляющих иммунитета эффективно бороться с АЧС, сами не приводя к нейтрализации вируса. В данном эксперименте зависимости скорости появления специфических антител от уровня ИЛ-10 в сыворотке крови не установлено.

Ингибирование активации и эффекторной функции Т-клеток [22]. Большую роль в защите от АЧС у переболевших животных отводят клеточному иммунитету. Результаты экспериментов с «обеднением» CD8+ лимфоцитов иммунных свиней моноклональными антителами подтверждают важную роль цитотоксических лимфоцитов в защите против вируса АЧС [17]. ИЛ-10 ингибирует активацию Th1 и НК-клеток [13]. Таким образом, индукция ИЛ-10 может играть существенную роль в патогенезе АЧС и наступлении гибели животного.

В опытах J. Post и соавт. [20] выжившие после заражения вирусом АЧС животные имели значительно более высокий уровень ИЛ-10 в сыворотке крови. Показано, что возраст влиял на наличие ФНО- α , ИЛ-12 и ИЛ-10 в начале эксперимента. У взрослых свиней (18-недельных по сравнению с 12-недельными) перед проведением опыта уровень данных цитокинов был более высоким. При распределении групп по летальности отличия были только в ИЛ-10, при этом его высокие уровни были у выживших животных. Авторы предполагают, что это обусловлено способностью ИЛ-10 предотвращать неконтролируемую продукцию провоспалительных цитокинов и повреждение тканей, что дает возможность Т-клеткам эффективно бороться с вирусом. При

этом у выживших животных обнаруживалось высокое количество $\gamma\delta$ -Т-клеток и активированных НК-клеток, что может указывать на действие ИЛ-10 [15].

Высокое количество цитотоксичных клеток у выживших животных может быть не результатом действия ИЛ-10, а независимой от этого причиной, особенно учитывая ингибирующий эффект ИЛ-10 на Т-клетки. Высокое содержание ИЛ-10 у павших животных при проведении эксперимента, описанного в данной работе, может быть связано как с высоким уровнем репликации вируса, что приводит к заражению и активации большого количества продуцирующих ИЛ-10 макрофагов, так и с направлением ИЛ-10 на переключение формы инфекции с острой в подострую [27], однако отсутствие эффективных против АЧС звеньев иммунитета не позволяло животным выжить.

Схожую картину наблюдают при инфицировании человека вирусом Эбола. Имеется четкое различие в экспрессии цитокинов у выживших и погибших пациентов. Наличие ИЛ-10 и высоких уровней неоптерина и рецептора А ИЛ-1 после наступления клинических признаков свидетельствует о фатальной инфекции, в то время как присутствие ИЛ-1 β и возрастающие концентрации ИЛ-6 в плазме в течение фазы клинического проявления болезни являются маркерами нефатальной инфекции [11, 24].

Кроме того, различия в зависимом от ИЛ-10 развитии болезни могут быть вызваны полиморфизмом кодирующих генов [25] либо различиями в вирулентности исследуемых изолятов.

Все это указывает на необходимость дальнейшего изучения регуляции воспаления (экспрессии провоспалительных и противовоспалительных цитокинов) при различных формах АЧС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У погибших после заражения умеренно вирулентным вирусом АЧС животных наблюдался более высокий уровень ИЛ-10 в сыворотке крови (15,8–173 пг/мл) по сравнению с выжившими поросятами (4–5 пг/мл). Для установления причинно-следственной связи необходимы дальнейшие исследования, включающие изучение экспрессии различных цитокинов при заражении как низко-, так и высоковирулентными изолятами вируса.

Контрольное заражение не влияет на уровень ИЛ-10 в сыворотке крови, вероятно, в результате того, что заболевание протекает без сильного воспаления, которое организму необходимо было бы регулировать, как это происходит в случае первичного иммунного ответа.

Заметного влияния уровня содержания ИЛ-10 в сыворотке крови до заражения на выживаемость животных не установлено.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Влияние пассивной иммунизации на клинические и патологоанатомические изменения у свиней, зараженных изолятом Мартинс-Крым 01/16 вируса АЧС / А. С. Першин, С. Г. Ремыга, И. В. Шевченко [и др.] // Ветеринария. – 2018. – № 1. – С. 25–31.
2. African swine fever virus infection induces tumor necrosis factor alpha production: implications in pathogenesis / M. Gómez del Moral, E. Ortuño, P. Fernández-Zapatero [et al.] // J. Virol. – 1999. – Vol. 73 (3). – P. 2173–2180; PMID: PMC104462.

3. African swine fever virus: a B cell-mitogenic virus *in vivo* and *in vitro* / H. Takamatsu, M. S. Denyer, C. Oura [et al.] // J. Gen. Virol. – 1999. – Vol. 80 (Pt. 6). – P. 1453–1461; DOI: 10.1099/0022-1317-80-6-1453.
4. African swine fever: Expression of interleukin-1 alpha and tumour necrosis factor-alpha by pulmonary intravascular macrophages / L. Carrasco, A. Núñez, F. J. Salguero [et al.] // J. Comp. Pathol. – 2002. – Vol. 126 (2–3). – P. 194–201; DOI: 10.1053/jcpa.2001.0543.
5. Autocrine deactivation of macrophages in transgenic mice constitutively overexpressing IL-10 under control of the human CD68 promoter / R. Lang, R. L. Rutschman, D. R. Greaves, P. J. Murray // J. Immunol. – 2002. – Vol. 168 (7). – P. 3402–3411; DOI: 10.4049/jimmunol.168.7.3402.
6. Biological properties of African swine fever virus Odintsovo 02/14 isolate and its genome analysis / A. A. Elskova, I. V. Shevchenko, A. A. Varentsova [et al.] // Int. J. Environ. Agric. Res. – 2017. – Vol. 3 (10). – P. 26–37; DOI: 10.25125/agriculture-journal-IJOEAR-OCT-2017-15.
7. Blome S., Gabriel C., Beer M. Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar // Virus Res. – 2013. – Vol. 173 (1). – P. 122–130; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.026.
8. Changes in macrophages in spleen and lymph nodes during acute African swine fever: expression of cytokines / F. J. Salguero, E. Ruiz-Villamor, M. J. Bautista [et al.] // Vet. Immunol. Immunopathol. – 2002. – Vol. 90 (1–2). – P. 11–22; DOI: 10.1016/S0165-2427(02)00225-8.
9. Characterization of the interaction of African swine fever virus with monocytes and derived macrophage subsets / G. Franzoni, S. P. Graham, S. D. Giudici [et al.] // Vet. Microbiol. – 2017. – Vol. 198. – P. 88–98; DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.12.010.
10. Comparative analysis of clinical and biological characteristics of African swine fever virus isolates from 2013 year Russian Federation / N. N. Vlasova, A. A. Varentsova, I. V. Shevchenko [et al.] // British Microbiol. Res. J. – 2015. – Vol. 5 (3). – P. 203–215; DOI: 10.9734/bmrj/2015/12941.
11. Defective humoral responses and extensive intravascular apoptosis are associated with fatal outcome of Ebola virus-infected patients / S. Baize, E. M. Leroy, M. C. Georges-Courbot [et al.] // Nat. Med. – 1999. – Vol. 5 (4). – P. 423–426; DOI: 10.1038/7422.
12. Evolution of African swine fever virus genes related to evasion of host immune response / M. Frączyk, G. Woźniakowski, A. Kowalczyk [et al.] // Vet. Microbiol. – 2016. – Vol. 193. – P. 133–144; DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.08.018.
13. Expression at mRNA level of cytokines and A238L gene in porcine blood-derived macrophages infected *in vitro* with African swine fever virus (ASFV) isolates of different virulence / S. Gil, M. Spagnuolo-Weaver, A. Canals [et al.] // Arch. Virol. – 2003. – Vol. 148 (11). – P. 2077–2097; DOI: 10.1007/s00705-003-0182-x.
14. Genetic variation among African swine fever genotype II viruses, Eastern and Central Europe / C. Gallardo, J. Fernández-Pinero, V. Peñayo [et al.] // Emerg. Infect. Dis. – 2014. – Vol. 20 (9). – P. 1544–1547; DOI: 10.3201/eid2009.140554.
15. IL-10 enhances expression of the IL-2 receptor alpha chain on T cells / S. B. Cohen, P. D. Katsikis, M. Feldmann, M. Londei // Immunology. – 1994. – Vol. 83 (3). – P. 329–332; PMID: PMC1415032.
16. IL-10, an inflammatory/inhibitory cytokine, but not always / P. Conti, D. Kempuraj, K. Kandere [et al.] // Immunol. Lett. – 2003. – Vol. 86 (2). – P. 123–129; DOI: 10.1016/S0165-2478(03)00002-6.
17. *In vivo* depletion of CD8+ T lymphocytes abrogates protective immunity to African swine fever virus / C. A. Oura, M. S. Denyer, H. Takamatsu, R. M. Parkhouse // J. Gen. Virol. – 2005. – Vol. 86 (Pt. 9). – P. 2445–2450; DOI: 10.1099/vir.0.81038-0.
18. Induction of IL-10 and inhibition of experimental arthritis are specific features of microbial heat shock proteins that are absent for other evolutionarily conserved immunodominant proteins / B. Prakken, U. Wendling, R. van der Zee [et al.] // J. Immunol. – 2001. – Vol. 167 (8). – P. 4147–4153; DOI: 10.4049/jimmunol.167.8.4147.
19. Inflammatory cytokines in animal health and disease / M. Murtaugh, M. J. Baarsch, Y. Zhou [et al.] // Vet. Immunol. Immunopathol. – 1996. – Vol. 54 (1–4). – P. 45–55; DOI: 10.1016/S0165-2427(96)05698-X.
20. Influence of age and dose of African swine fever virus infections on clinical outcome and blood parameters in pigs / J. Post, E. Weesendorp, M. Montoya, W. L. Loeffen // Viral Immunol. – 2017. – Vol. 30 (1). – P. 58–69; DOI: 10.1089/vim.2016.0121.
21. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms / P. Wang, P. Wu, M. I. Siegel [et al.] // J. Biol. Chem. – 1995. – Vol. 270 (16). – P. 9558–9563; DOI: 10.1074/jbc.270.16.9558.
22. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor / K. W. Moore, R. de Waal Malefyt, R. L. Coffman, A. O'Garra // Ann. Rev. Immunol. – 2001. – Vol. 19. – P. 683–765; DOI: 10.1146/annurev.immunol.19.1.683.
23. Manipulating IL-10 signalling blockade for better immunotherapy / G. Ni, T. Wang, S. Walton [et al.] // Cell. Immunol. – 2015. – Vol. 293 (2). – P. 126–129; DOI: 10.1016/j.cellimm.2014.12.012.

24. Markedly elevated levels of interferon (IFN)- γ , IFN- α , interleukin (IL)-2, IL-10, and tumor necrosis factor- α associated with fatal Ebola virus infection / F. Villinger, P. E. Rollin, S. S. Brar [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 1999. – Vol. 179 (Suppl. 1). – P. 188–191; DOI: 10.1086/514283.
25. Molecular characterization and SNP development for the porcine IL6 and IL10 genes / E. Daniłowicz, M. Akouchekian, C. Drogemüller [et al.] // *Anim. Biotechnol.* – 2008. – Vol. 19 (3). – P. 159–165; DOI: 10.1080/10495390802088621.
26. Mosser D. M. The many faces of macrophage activation // *J. Leukoc. Biol.* – 2003. – Vol. 73 (2). – P. 209–212; DOI: 10.1189/jlb.0602325.
27. Pathology of African swine fever: the role of monocyte-macrophage / J. C. Gómez-Villamandos, M. J. Bautista, P. J. Sánchez-Cordón, L. Carrasco // *Virus. Res.* – 2013. – Vol. 173 (1). – P. 140–149; DOI: 10.1016/j.virusres.2013.01.017.
28. Peters C. J. Viral hemorrhagic fevers // *Viral Pathogenesis* / ed. N. Nathanson [et al.]. – Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. – P. 779–799.
29. Regulatory activity of autocrine IL-10 on dendritic cell functions / S. Corinti, C. Albanesi, A. la Sala [et al.] // *J. Immunol.* – 2001. – Vol. 166 (7). – P. 4312–4318; DOI: 10.4049/jimmunol.166.7.4312.
30. The low-virulent African swine fever virus (ASFV/NH/P68) induces enhanced expression and production of relevant regulatory cytokines (IFN α , TNF α and IL12p40) on porcine macrophages in comparison to the highly virulent ASFV/L60 / S. Gil, N. Sepúlveda, E. Albina [et al.] // *Arch. Virol.* – 2008. – Vol. 153 (10). – P. 1845–1854; DOI: 10.1007/s00705-008-0196-5.
31. The pathogenic role of pulmonary intravascular macrophages in acute African swine fever / L. Carrasco, F. C. de Lara, J. C. Gómez-Villamandos [et al.] // *Res. Vet. Sci.* – 1996. – Vol. 61 (3). – P. 193–198; PMID: 8938846.
32. Vaccination against tuberculosis: how can we better BCG? / J. M. Pitt, S. Blankley, H. McShane, A. O'Garra // *Microb. Pathog.* – 2013. – Vol. 58. – P. 2–16; DOI: 10.1016/j.micpath.2012.12.002.
33. Wardley R. C. Effect of African swine fever on lymphocyte mitogenesis // *Immunology.* – 1982. – Vol. 46 (1). – P. 215–220; PMID: PMC1555335.

REFERENCES

1. Influence of passive immunization on clinical and pathological features of pig infection with isolate Martins-Crimea 01/16 ASFV [Vliyanie passivnoy immunizatsii na klinicheskie i patologoanatomicheskie izmeneniya u svinej, zarazennyh izolyatom Martins-Krym 01/16 virusa ACHS]. A. S. Pershin, S. G. Remyga, I. V. Shevchenko [et al.]. *Veterinaria*. 2018; 1: 2531 (in Russian).
2. African swine fever virus infection induces tumor necrosis factor alpha production: implications in pathogenesis. M. Gómez del Moral, E. Ortuño, P. Fernández-Zapatero [et al.]. *J. Virol.* 1999; 73 (3): 2173–2180; PMID: PMC104462.
3. African swine fever virus: a B cell-mitogenic virus *in vivo* and *in vitro*. H. Takamatsu, M. S. Denyer, C. Oura [et al.]. *J. Gen. Virol.* 1999; 80 (Pt. 6): 1453–1461; DOI: 10.1099/0022-1317-80-6-1453.
4. African swine fever: Expression of interleukin-1 alpha and tumour necrosis factor-alpha by pulmonary intravascular macrophages. L. Carrasco, A. Núñez, F. J. Salguero [et al.]. *J. Comp. Pathol.* 2002; 126 (2–3): 194–201; DOI: 10.1053/jcpa.2001.0543.
5. Autocrine deactivation of macrophages in transgenic mice constitutively overexpressing IL-10 under control of the human CD68 promoter. R. Lang, R. L. Rutschman, D. R. Greaves, P. J. Murray. *J. Immunol.* 2002; 168 (7): 3402–3411; DOI: 10.4049/jimmunol.168.7.3402.
6. Biological properties of African swine fever virus Odintsovo 02/14 isolate and its genome analysis. A. A. Elskova, I. V. Shevchenko, A. A. Varentsova [et al.]. *Int. J. Environ. Agric. Res.* 2017; 3 (10): 26–37; DOI: 10.25125/agriculture-journal-IJOEAR-OCT-2017-15.
7. Blome S., Gabriel C., Beer M. Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar. *Virus Res.* 2013; 173 (1): 122–130; DOI: 10.1016/j.virusres.2012.10.026.
8. Changes in macrophages in spleen and lymph nodes during acute African swine fever: expression of cytokines. F. J. Salguero, E. Ruiz-Villamor, M. J. Bautista [et al.]. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2002; 90 (1–2): 11–22; DOI: 10.1016/S0165-2427(02)00225-8.
9. Characterization of the interaction of African swine fever virus with monocytes and derived macrophage subsets. G. Franzoni, S. P. Graham, S. D. Giudici [et al.]. *Vet. Microbiol.* 2017; 198: 88–98; DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.12.010.
10. Comparative analysis of clinical and biological characteristics of African swine fever virus isolates from 2013 year Russian Federation. N. N. Vlasova, A. A. Varentsova, I. V. Shevchenko [et al.]. *British Microbiol. Res. J.* 2015; 5 (3): 203–215; DOI: 10.9734/bmrj/2015/12941.
11. Defective humoral responses and extensive intravascular apoptosis are associated with fatal outcome of Ebola virus-infected patients. S. Baize, E. M. Leroy, M. C. Georges-Courbot [et al.]. *Nat. Med.* 1999; 5 (4): 423–426; DOI: 10.1038/7422.
12. Evolution of African swine fever virus genes related to evasion of host immune response. M. Frączyk, G. Woźniakowski, A. Kowalczyk [et al.]. *Vet. Microbiol.* 2016; 193: 133–144; DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.08.018.
13. Expression at mRNA level of cytokines and A238L gene in porcine blood-derived macrophages infected *in vitro* with African swine fever virus (ASFV) isolates of different virulence. S. Gil, M. Spagnuolo-Weaver, A. Canals [et al.]. *Arch. Virol.* 2003; 148 (11): 2077–2097; DOI: 10.1007/s00705-003-0182-x.
14. Genetic variation among African swine fever genotype II viruses, Eastern and Central Europe. C. Gallardo, J. Fernández-Pinero, V. Pelayo [et al.]. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20 (9): 1544–1547; DOI: 10.3201/eid2009.140554.
15. IL-10 enhances expression of the IL-2 receptor alpha chain on T cells. S. B. Cohen, P. D. Katsikis, M. Feldmann, M. Londei. *Immunology.* 1994; 83 (3): 329–332; PMID: PMC1415032.
16. IL-10, an inflammatory/inhibitory cytokine, but not always. P. Conti, D. Kempuraj, K. Kandere [et al.]. *Immunol. Lett.* 2003; 86 (2): 123–129; DOI: 10.1016/S0165-2478(03)00002-6.
17. *In vivo* depletion of CD8+ T lymphocytes abrogates protective immunity to African swine fever virus. C. A. Oura, M. S. Denyer, H. Takamatsu, R. M. Parkhouse. *J. Gen. Virol.* 2005; 86 (Pt. 9): 2445–2450; DOI: 10.1099/vir.0.81038-0.
18. Induction of IL-10 and inhibition of experimental arthritis are specific features of microbial heat shock proteins that are absent for other evolutionarily conserved immunodominant proteins. B. Prakken, U. Wendling, R. van der Zee [et al.]. *J. Immunol.* 2001; 167 (8): 4147–4153; DOI: 10.4049/jimmunol.167.8.4147.
19. Inflammatory cytokines in animal health and disease. M. Murtaugh, M. J. Baarsch, Y. Zhou [et al.]. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1996; 54 (1–4): 45–55; DOI: 10.1016/S0165-2427(96)05698-X.
20. Influence of age and dose of African swine fever virus infections on clinical outcome and blood parameters in pigs. J. Post, E. Weesendorp, M. Montoya, W. L. Loeffen. *Viral Immunol.* 2017; 30 (1): 58–69; DOI: 10.1089/vim.2016.0121.
21. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. P. Wang, P. Wu, M. I. Siegel [et al.]. *J. Biol. Chem.* 1995; 270 (16): 9558–9563; DOI: 10.1074/jbc.270.16.9558.
22. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. K. W. Moore, R. de Waal Malefyt, R. L. Coffman, A. O'Garra. *Ann. Rev. Immunol.* 2001; 19: 683–765; DOI: 10.1146/annurev.immunol.19.1.683.
23. Manipulating IL-10 signalling blockade for better immunotherapy. G. Ni, T. Wang, S. Walton [et al.]. *Cell. Immunol.* 2015; 293 (2): 126–129; DOI: 10.1016/j.cellimm.2014.12.012.
24. Markedly elevated levels of interferon (IFN)- γ , IFN- α , interleukin (IL)-2, IL-10, and tumor necrosis factor- α associated with fatal Ebola virus infection. F. Villinger, P. E. Rollin, S. S. Brar [et al.]. *J. Infect. Dis.* 1999; 179 (Suppl. 1): 188–191; DOI: 10.1086/514283.
25. Molecular characterization and SNP development for the porcine IL6 and IL10 genes. E. Daniłowicz, M. Akouchekian, C. Drogemüller [et al.]. *Anim. Biotechnol.* 2008; 19 (3): 159–165; DOI: 10.1080/10495390802088621.
26. Mosser D. M. The many faces of macrophage activation. *J. Leukoc. Biol.* 2003; 73 (2): 209–212; DOI: 10.1189/jlb.0602325.
27. Pathology of African swine fever: the role of monocyte-macrophage. J. C. Gómez-Villamandos, M. J. Bautista, P. J. Sánchez-Cordón, L. Carrasco. *Virus. Res.* 2013; 173 (1): 140–149; DOI: 10.1016/j.virusres.2013.01.017.
28. Peters C. J. Viral hemorrhagic fevers. *Viral Pathogenesis*. ed. N. Nathanson [et al.]. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997; 779–799.
29. Regulatory activity of autocrine IL-10 on dendritic cell functions. S. Corinti, C. Albanesi, A. la Sala [et al.]. *J. Immunol.* 2001; 166 (7): 4312–4318; DOI: 10.4049/jimmunol.166.7.4312.
30. The low-virulent African swine fever virus (ASFV/NH/P68) induces enhanced expression and production of relevant regulatory cytokines (IFN α , TNF α and IL12p40) on porcine macrophages in comparison to the highly virulent ASFV/L60. S. Gil, N. Sepúlveda, E. Albina [et al.]. *Arch. Virol.* 2008; 153 (10): 1845–1854; DOI: 10.1007/s00705-008-0196-5.
31. The pathogenic role of pulmonary intravascular macrophages in acute African swine fever. L. Carrasco, F. C. de Lara, J. C. Gómez-Villamandos [et al.]. *Res. Vet. Sci.* 1996; 61 (3): 193–198; PMID: 8938846.
32. Vaccination against tuberculosis: how can we better BCG? J. M. Pitt, S. Blankley, H. McShane, A. O'Garra. *Microb. Pathog.* 2013; 58: 2–16; DOI: 10.1016/j.micpath.2012.12.002.
33. Wardley R. C. Effect of African swine fever on lymphocyte mitogenesis. *Immunology.* 1982; 46 (1): 215–220; PMID: PMC1555335.

Поступила 02.08.19

Принята в печать 23.08.19

ОБНАРУЖЕНИЕ ЦИРКОВИРУСА ТРЕТЬЕГО ТИПА В СВИНОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВАХ РОССИИ

М. В. Бирюченкова¹, А. М. Тимина², А. В. Щербakov³,

¹ Научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: biruchenkova@arriah.ru; ORCID ID: 0000-0001-9131-8839

² Старший научный сотрудник, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: timina@arriah.ru; ORCID ID: 0000-0002-0109-3507

³ Заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: ascherbakov@arriah.ru; ORCID ID: 0000-0001-8326-4201

РЕЗЮМЕ

Заболевания, ассоциированные с цирковиром (обычно с цирковиром второго типа), имеют различные проявления, широко распространены у свиней в странах с развитым свиноводством и причиняют значительный экономический ущерб. В 2015 году в США был обнаружен цирковир третьего типа, вызывающий у животных системное воспаление неясной этиологии. Впоследствии были опубликованы данные о выявлении вируса в Азии, Европе и Южной Америке. Проведен анализ литературных данных о современной эпизоотической обстановке по вызванной вирусом третьего типа цирковирной инфекции за рубежом, а также отражены вопросы клинических и патолого-анатомических проявлений заболевания. В работе представлены результаты молекулярно-генетических исследований биоматериалов от свиней из 51 хозяйства 28 регионов Российской Федерации. При исследовании 280 проб биоматериала различного происхождения (органы, ткани, мертворожденные поросята) от домашних свиней с патологией респираторной, репродуктивной и нервной систем, признаками истощения, дерматитами геном цирковиром третьего типа был обнаружен в 11 образцах из 9 хозяйств 5 областей Российской Федерации. Цирковир третьего типа был выявлен в тканях легких, бронхальных

и средостенных лимфоузлов, селезенки поросят групп дорастивания и откорма, взрослых животных и абортинного плода. Положительные пробы по содержанию ДНК цирковиром третьего типа с помощью молекулярных методов (ПЦР, ПЦР в реальном времени) были исследованы на наличие других патогенов. В 6 из 11 проб (55%) были также обнаружены *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* и *Pasteurella multocida*, а также в одной пробе цирковиром второго типа. Представленные результаты исследований свидетельствуют о возможности смешанной этиологии респираторных патологий и репродуктивных нарушений у обследованных свиней, которые приводят к возникновению широкого спектра клинических признаков. Установлено, что наиболее подвержены заболеванию цирковиром третьего типа поросята в возрасте дорастивания и откорма. Для выявления реального патогенного потенциала цирковиром третьего типа и изучения его распространения на территории Российской Федерации необходимы дальнейшие исследования.

Ключевые слова: полимеразная цепная реакция, цирковир 3-го типа (ЦВС-3), свиньи.

UDC 619:616.98:578:636.4

DETECTION OF PORCINE CIRCOVIRUS TYPE 3 IN RUSSIAN PIG HOLDINGS

M. V. Biryuchenkova¹, A. M. Timina², A. V. Shcherbakov³

¹ Researcher, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: biruchenkova@arriah.ru; ORCID ID: 0000-0001-9131-8839

² Senior Researcher, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: timina@arriah.ru; ORCID ID: 0000-0002-0109-3507

³ Head of Laboratory, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: ascherbakov@arriah.ru; ORCID ID: 0000-0001-8326-4201

SUMMARY

Diseases associated with porcine circoviruses (mainly with porcine circovirus type 2) have various manifestations, are common in pigs in countries having well-developed pig industry and responsible for significant economic losses. Porcine circovirus type 3 (PCV-3) causing systemic inflammation of unknown etiology in animals was detected in the USA in 2015. Later, data on PCV-3 detection in Asia, Europe and South America were published. Analysis of literature data on current epidemic situation on PCV-3 infection in foreign countries as well as the disease clinical manifestations and postmortem lesions are described. Results of molecular and genetic tests of biomaterials collected from pigs in 51 holdings located in 28 regions of the Russian Federation are presented. A total of 280 samples of biological materials of different types (organs, tissues, stillborn piglets) collected from domestic pigs with respiratory, reproductive and neurological disorders, dermatitis and from emaciated pigs were tested and PCV-3 genome was detected in 11 samples from 9 holdings located in 5 regions of the Russian Federation. Porcine

circovirus type 3 was detected in lung, bronchial and mediastinal lymph node, spleen tissues from grower and fattening piglets, adult pigs and aborted fetuses. Samples that were positive for PCV-3 DNA when tested with molecular methods (PCR, real-time PCR) were tested for other pathogens. The following pathogens were also detected in 6 out of 11 samples (55%): *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Pasteurella multocida*. Porcine circovirus type 2 was detected in one sample. Presented test results are indicative of probable combined etiology of respiratory and reproductive disorders in tested pigs that results in various clinical manifestations. Grower and fattening piglets were found to be the most susceptible to PCV-3-associated disease. Further studies are required for identification of actual PCV-3 pathogenicity and its prevalence in the territory of the Russian Federation.

Key words: polymerase chain reaction, porcine circovirus type 3 (PCV-3), pigs.

ВВЕДЕНИЕ

Цирковирусы входят в состав рода *Circovirus* семейства *Circoviridae*. Цирковиральные инфекции свиней распространены в странах с развитым свиноводством (Германия, Канада, США, Ирландия, Франция, Испания). До недавнего времени считалось, что в популяции свиней встречается два вида цирковируса: цирковир типа 1 (ЦВС-1) и типа 2 (ЦВС-2). В то время как ЦВС-1 не патогенен для рассматриваемого вида животных, ЦВС-2 является первичным этиологическим агентом синдрома мультисистемного истощения поросят-отъемышей (СМИО), ассоциирован с синдромом нефропатии и дерматитов поросят (СНДП), вовлечен в респираторную и репродуктивную патологию свиней, а также может вызывать клинические симптомы заболеваний пищеварительной, лимфатической, кровеносной, нервной системы, а также изменений на коже. В настоящее время антитела к ЦВС-2 обнаруживаются у свиней практически во всех хозяйствах, а число серопозитивных животных может достигать 100% [2, 8].

В 2015 г. в ветеринарной диагностической лаборатории Университета Миннесоты (UMN-VDL) в США был обнаружен новый цирковир 3-го типа – ЦВС-3. Предпосылкой его выявления послужили результаты метагеномного секвенирования образцов тканей, отобранных от свиней с мультисистемными поражениями, которые оказались отрицательными при исследовании их на наличие известных патогенных микроорганизмов, таких как ЦВС-2, вирус гриппа А, вирус репродуктивного и респираторного синдрома свиней, вирус классической чумы свиней, пестивирус, вирус ящура, парвовирус свиней 1-го и 2-го типов, вирус Западного Нила, вирус энцефаломиокардита, *Mycoplasma hyosynoviae*, *Mycoplasma hyopneumoniae* и *Erysipelothrix rhusiopathiae* [8]. Почти одновременно другая исследовательская группа в Соединенных Штатах с помощью метагеномного секвенирования обнаружила ЦВС-3 в тканях от свиноматок с хронической репродуктивной недостаточностью, а также в органах мумифицированных плодов с признаками, характерными для СНДП, от этих же свиноматок. R. Palinski и соавт. провели ретроспективные исследования 48 образцов тканей от животных с СНДП, в которых ранее не было выявлено ЦВС-2. Было установлено, что в 93,8% случаев образцы содержали ЦВС-3 [3].

Впоследствии было показано, что вирус широко распространен в Азии – Китае, Южной Корее, Таиланде [7, 13, 15, 16]. В других источниках сообщается о распространении вируса в странах

Европы – Ирландии, Польше, Дании, Италии, Испании, Великобритании, Германии, Швеции, а также Южной Америки – Бразилии [4, 5, 9–11].

R. Fux и соавт. провели филогенетический анализ полученных в ходе исследований полногеномных последовательностей штаммов ЦВС-3 и последовательностей, имеющихся в базе данных GenBank, что позволило выделить наличие двух отдельных групп штаммов, которые можно рассматривать как генотипы ЦВС-3 [11].

Хотя цирковир 3-го типа был обнаружен у животных разного возраста с различными клиническими признаками, его роль как вероятного патогена в инфекционной патологии свиней остается неясной.

Цель данной работы заключалась в изучении ситуации по ЦВС-3 у свиней в России с использованием молекулярно-генетических методов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Патологический материал. Для диагностических исследований использовали свежие или замороженные кусочки легких и селезенки, лимфатические узлы от свиней с респираторными нарушениями и признаками истощения; ткани от животных с патологией нервной системы, дерматитами; органы от абортировавших свиноматок, плаценту, органы мертворожденных поросят, полученные из свиноводческих хозяйств РФ.

Выделение ДНК из 10%-й суспензии биологического материала осуществляли с использованием 6 М гуанидин изотиоцианата и стекловолокнистых фильтров GF/F [1].

Детекцию ЦВС-3 проводили методом классической полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием пары праймеров, специфичных для данного вируса, по методике, описанной G. H. Chen в 2017 г. [6].

Дифференциальную диагностику вирусных и бактериальных заболеваний, ассоциированных с респираторной и репродуктивной патологиями, проводили молекулярными методами (ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) и ПЦР) параллельно основному исследованию.

Данные о клиническом проявлении болезни и возрасте животных, от которых отбирались образцы патологического материала, были получены из описательной части сопроводительных документов, а также в ходе дополнительного опроса ветеринарных врачей из хозяйств, в которых у свиней регистрировали респираторный и репродуктивный синдромы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для достижения поставленной цели было исследовано 280 образцов патологического материала, полученных из различных свиноводческих хозяйств России. Пробы от свиней с поражениями различной этиологии поступили в 2018 г. в ФГБУ «ВНИИЗЖ» из 51 хозяйства 28 регионов РФ для обнаружения присутствующих в материале патогенов инфекционной природы.

На наличие ДНК ЦВС-3 исследовали органы и ткани от свиней с респираторной патологией (121 проба), мертворожденных поросят (3 пробы), свиноматок с нарушением воспроизводительной функции/абортами (26 проб), свиней с дерматитами (2 пробы), патологией нервной системы (3 пробы), а также другими клиническими признаками (125 проб). Основные данные о проведенном исследовании представлены в таблице 1.

Геном ЦВС-3 был обнаружен в 11 образцах (4%), полученных из 9 хозяйств 5 областей РФ: в легких,

Таблица 1
Обнаружение генома ЦВС-3 при различных формах патологии у свиней

Форма патологии	Количество проб	
	исследовано	положительных
Респираторная	121	10
Репродуктивная: мертворождение	3	–
Репродуктивная: аборты	26	1
Дерматиты	2	–
Нервная	3	–
Другое	125	–

бронхиальных и средостенных лимфоузлах, селезенке, а также в органах абортрованного плода.

Положительные по содержанию ДНК ЦВС-3 пробы были также исследованы на наличие других патогенов с помощью молекулярных методов (ПЦР, ПЦР-РВ). Результаты исследований представлены в таблице 2.

В 5 из 11 исследованных проб (45%) не удалось обнаружить присутствия генетического материала других инфекционных агентов. Однако в 6 исследованных пробах патматериала, кроме цирковируса 3-го типа, выявили *Actinobacillus pleuropneumoniae* (дважды), *Mycoplasma hyorhinis* (дважды), *Streptococcus suis* (дважды), *Haemophilus parasuis* (дважды), *Mycoplasma hyopneumoniae* и *Pasteurella multocida*. Примечательно, что в одной из проб наряду с ДНК ЦВС-3 была обнаружена также ДНК цирковируса свиней 2-го типа (табл. 2).

По данным зарубежных публикаций, число проб, в которых обнаруживали ЦВС-3, составляет значительную долю от количества исследованных: 73% (Южная

Корея), 35% (Китай), 22% (Польша), 20% (Ирландия), 13% (США) и 5% (Великобритания) [4, 14, 16].

Вирус обнаруживался в различных видах патологического материала. Так, в 2017 г. в Польше R. Palinski с соавт. установили присутствие ЦВС-3 у свиноматок с кожными поражениями, а также у мумифицированных плодов этих свиноматок. Кроме того, данный вирус был выявлен в 13% образцов легких, ротовой жидкости и мазков из носа от животных с респираторными заболеваниями [3]. В Китае ЦВС-3 выделили из легких поросят с признаками респираторной инфекции и температурой тела выше 40 °C [12]. Помимо этого, ЦВС-3 был выявлен у свиноматок с репродуктивными патологиями в 24 из 35 обследованных в Китае ферм [13].

По данным S. Hayashi (Япония), наиболее часто цирковирус типа 3 обнаруживается в лимфоузлах – подчелюстных и брыжеечных (33% и 25% случаев соответственно), реже – в тканях почек (29%), кишечнике (12%), легочных лимфоузлах (8%), легких (7%), мозге (8%),

Таблица 2

Результаты исследования образцов проб, содержащих ДНК ЦВС-3, на присутствие генетического материала других инфекционных агентов

№ пробы	Регион РФ	Возраст животного	Патология	Органы, взятые для исследования	Другие обнаруженные патогены
1	Воронежская область	Поросенок группы откорма	Респираторная	Легкие, селезенка, регионарные лимфатические узлы	–
2	Белгородская область	Поросенок группы откорма	Респираторная	Легкие, селезенка, регионарные лимфатические узлы	ЦВС-2
3	Курская область	Поросенок группы откорма	Респираторная	Легкие, регионарные лимфатические узлы	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>
4	Липецкая область	Поросенок группы откорма	Респираторная	Легкие, селезенка, регионарные лимфатические узлы	–
5	Белгородская область	Поросенок группы откорма	Респираторная	Легкие, регионарные лимфатические узлы	<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i> , <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
6	Краснодарский край	Поросенок группы дорастивания	Респираторная	Легкие, регионарные лимфатические узлы	<i>Haemophilus parasuis</i> , <i>Mycoplasma hyorhinis</i> , <i>Streptococcus suis</i>
7	Воронежская область	Поросенок группы дорастивания	Респираторная	Легкие, селезенка, регионарные лимфатические узлы	<i>Streptococcus suis</i>
8	Белгородская область	Поросенок группы дорастивания	Респираторная	Легкие, регионарные лимфатические узлы	<i>Haemophilus parasuis</i> , <i>Mycoplasma hyorhinis</i> , <i>Pasteurella multocida</i>
9	Белгородская область	Свиноматка	Респираторная	Легкие, регионарные лимфатические узлы	–
10	Белгородская область	Свиноматка	Респираторная	Легкие, регионарные лимфатические узлы	–
11	Белгородская область	Абортрованный плод	Репродуктивная	Паренхиматозные органы	–

селезенке (4%), печени (3%) и органах плодов (2%) [9]. Х. Ки также выявлял ЦВС-3 в различных органах свиней. Обнаружив вирус в органах плода, он, подобно другим зарубежным авторам, предположил, что ЦВС-3 участвует в репродуктивной патологии с вертикальной передачей вируса. Исследования, проведенные в США, Китае и Таиланде, подтверждают подобную гипотезу [9, 13, 15].

Несмотря на то что геном ЦВС-3 был обнаружен во многих внутренних органах свиней, обозначить конкретный орган-мишень для инфицирования этим вирусом зарубежными исследователями не удалось [9]. Также остается малоизученной роль вируса в патогенезе различных по синдромам болезней у свиней. Кроме того, необходимо учитывать множество факторов, способствующих возникновению патологий (стресс, перенаселенность, иммунодефицитные состояния, некачественные корма).

Исходя из содержания сопроводительной документации к материалам, направленным на исследование в ФГБУ «ВНИИЗЖ», образцы, показавшие при исследовании положительный результат, были отобраны от поросят групп дорастивания и откорма (8 проб – 73%), взрослых животных (2 пробы – 18%) и абортинированного плода (1 проба – 9%) (табл. 2).

В зарубежной литературе можно найти данные по выявлению ЦВС-3 в образцах, отобранных от поросят в возрасте 14–21 сут и 63–70 сут, а также у абортинированных плодов [7]. Т. Stadejek с соавт. утверждают, что ЦВС-3 наиболее распространен среди поросят группы отъема, дорастивания и свиноматок, но почти не встречается у поросят-сосунков. Авторы предположили, что такая разница в частоте случаев выявления патогена среди возрастных групп обусловлена защитными факторами иммунной системы свиноматок [10]. По данным S. Hayashi, частота выявления ЦВС-3 составила 7% для абортинированных плодов, 13% – для подсосных поросят (3–4 нед.), 9% – для поросят-отъемышей (8–10 нед.) и 9% – для поросят группы откорма и взрослых свиней [9].

Представленные в таблице 2 результаты исследований свидетельствуют о возможности смешанной этиологии респираторных патологий и репродуктивных нарушений у обследованных свиней, что подтверждается обнаружением более чем в половине позитивных в отношении генома ЦВС-3 проб генетического материала других возбудителей инфекционных болезней (*A. pleuropneumoniae*, *M. hyopneumoniae*, *M. hyorhinis*, *S. suis*, *H. parasuis*, *P. multocida*).

За рубежом смешанная инфекция ЦВС-2 + ЦВС-3 обнаруживается довольно часто (в 46% случаев). Наряду с ЦВС-2 нередко выявляются такие коинфицирующие агенты, как парвовирус (60%), вирус репродуктивно-респираторного синдрома свиней (11%), а также *Staphylococcus suis*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus haemolyticus* (количественные данные не представлены). На основании этих данных авторы предполагают, что подобные ассоциации возбудителей приводят к возникновению широкого спектра клинических признаков, в том числе системным проявлениям инфекции [9, 14].

Исходя из вышеизложенного, возникает необходимость проведения дополнительных исследований с целью изучения как моноинфекции ЦВС-3, так и его ассоциаций с другими патогенами.

Таким образом, результаты исследований подтверждают, что ЦВС-3 присутствует в свиноводческих хозяйствах Российской Федерации. Изложенные выше материалы дают основания предполагать, что ЦВС-3 может являться причиной возникновения, или как минимум способствовать развитию, респираторной патологии и репродуктивных расстройств у свиней. Целесообразно проведение дальнейших исследований по изучению распространения цирковируса 3-го типа на территории РФ и выяснению влияния данного патогена, а также ассоциированных с ним агентов вирусной и бактериальной этиологии на развитие различных патологий у свиней.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что цирковирус 3-го типа распространен в свиноводческих хозяйствах Российской Федерации.

2. Цирковирус 3-го типа выявлен в патологическом материале, отобранном от животных с респираторной и репродуктивной патологиями, и, возможно, является этиологическим агентом, обуславливающим их возникновение, либо способствует развитию болезни.

3. Цирковирус 3-го типа обнаружен в патологическом материале от поросят групп дорастивания и откорма, взрослых животных и абортинированного плода.

4. Одновременно с цирковирусом 3-го типа выявляли *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyorhinis*, *Streptococcus suis*, *Haemophilus parasuis*, *Mycoplasma hyopneumoniae* и *Pasteurella multocida*, что может свидетельствовать о смешанной этиологии возникновения (течения) респираторных и репродуктивных болезней свиней.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Использование аэросила А-300 и фильтров GF/F (GF/C) для очистки фрагментов ДНК, ДНК-плазмид и РНК / О. Г. Грибанов, А. В. Щербанов, Н. А. Перевозчикова, А. А. Гусев // Биохимия. – 1996. – Т. 61, № 6. – С. 1064–1070.
2. Тимина А. М. Разработка методов лабораторной диагностики цирковиральной инфекции свиней: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Владимир, 2006. – 27 с.
3. A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure / R. Palinski, P. Piñeyro, P. Shang [et al.] // J. Virol. – 2017. – Vol. 91 (1): e01879–16; DOI: 10.1128/JVI.01879-16.
4. Collins P. J., McKillen J., Allan G. Porcine circovirus type 3 in the UK // Vet. Rec. – 2017. – Vol. 181 (22). – P. 599; DOI: 10.1136/vr.j5505.
5. Detection and genetic characterization of porcine circovirus type 3 in Italy / S. Faccini, I. Barbieri, A. Gilioli [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. – 2017. – Vol. 64 (6). – P. 1661–1664; DOI: 10.1111/tbed.12714.
6. Detection and genome sequencing of porcine circovirus 3 in neonatal pigs with congenital tremors in South China / G. H. Chen, K. J. Mai, L. Zhou [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. – Vol. 64 (6). – P. 1650–1654; DOI: 10.1111/tbed.12702.
7. Detection and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 in central China / P.-L. Xu, Y. Zhang, Y. Zhao [et al.] // Transbound. Emerg. Dis. – 2018. – Vol. 65 (5). – P. 1163–1169; DOI: 10.1111/tbed.12920.
8. Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation / T. G. Phan, F. Giannitti, S. Rossow [et al.] // Virol. J. – 2016. – Vol. 13 (184); DOI: 10.1186/s12985-016-0642-z.
9. First detection of porcine circovirus type 3 in Japan / S. Hayashi, Y. Ohshima, Y. Furuya [et al.] // J. Vet. Med. Sci. – 2018. – Vol. 80 (9). – P. 1468–1472; DOI: 10.1292/jvms.18-0079.
10. First detection of porcine circovirus type 3 on commercial pig farms in Poland / T. Stadejek, A. Woźniak, D. Milek, K. Biernacka // Transbound. Emerg. Dis. – 2017. – Vol. 64 (5). – P. 1350–1353; DOI: 10.1111/tbed.12672.

11. Full genome characterization of porcine circovirus type 3 isolates reveals the existence of twodistinct groups of virus strains / R. Fux, Ch. Söckler, E. K. Link [et al.] // *Viol. J.* – 2018. – Vol. 15 (1):25; DOI: 10.1186/s12985-018-0929-3.
12. Genome characterization of a porcine circovirus type 3 in South China / H. Shen, X. Liu, P. Zhang [et al.] // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2018. – Vol. 65 (1). – P. 264–266; DOI: 10.1111/tbed.12639.
13. Identification and genetic characterization of porcine circovirus type 3 in China / X. Ku, F. Chen, P. Li [et al.] // *Transbound. Emerg. Dis.* – 2017. – Vol. 64 (3). – P. 703–708; DOI: 10.1111/tbed.12638.
14. Molecular detection and genomic characterization of porcine circovirus 3 in pigs from Northeast China / Z. Ha, C.-Z. Xie, J.-F. Li [et al.] // *Vet. Res.* – 2018. – Vol. 14 (321); DOI: 10.1186/s12917-018-1634-6.
15. Porcine circovirus type 3 (PCV3) infection in grower pigs from a Thai farm suffering from porcine respiratory disease complex (PRDC) / R. Kedkovid, Y. Woonwong, J. Arunorat [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 2018. – Vol. 215. – P. 71–76; DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.01.004.
16. Prevalence of novel porcine circovirus 3 in Korean pig populations / T. Kwon, S. J. Yoo, C.-K. Park, Y. S. Lyoo // *Vet. Microbiol.* – 2017. – Vol. 207. – P. 178–180; DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.06.013.
6. Detection and genome sequencing of porcine circovirus 3 in neonatal pigs with congenital tremors in South China. G. H. Chen, K. J. Mai, L. Zhou [et al.]. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): 1650–1654; DOI: 10.1111/tbed.12702.
7. Detection and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 3 in central China. P.-L. Xu, Y. Zhang, Y. Zhao [et al.]. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (5): 1163–1169; DOI: 10.1111/tbed.12920.
8. Detection of a novel circovirus PCV3 in pigs with cardiac and multi-systemic inflammation. T. G. Phan, F. Giannitti, S. Rossow [et al.]. *Viol. J.* 2016; 13 (184); DOI: 10.1186/s12985-016-0642-z.
9. First detection of porcine circovirus type 3 in Japan. S. Hayashi, Y. Ohshima, Y. Furuya [et al.]. *J. Vet. Med. Sci.* 2018; 80 (9): 1468–1472; DOI: 10.1292/jvms.18-0079.
10. First detection of porcine circovirus type 3 on commercial pig farms in Poland. T. Stadejek, A. Woźniak, D. Miłek, K. Biernacka. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (5): 1350–1353; DOI: 10.1111/tbed.12672.
11. Full genome characterization of porcine circovirus type 3 isolates reveals the existence of twodistinct groups of virus strains. R. Fux, Ch. Söckler, E. K. Link [et al.]. *Viol. J.* 2018; 15 (1):25; DOI: 10.1186/s12985-018-0929-3.
12. Genome characterization of a porcine circovirus type 3 in South China. H. Shen, X. Liu, P. Zhang [et al.]. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (1): 264–266; DOI: 10.1111/tbed.12639.
13. Identification and genetic characterization of porcine circovirus type 3 in China. X. Ku, F. Chen, P. Li [et al.]. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (3): 703–708; DOI: 10.1111/tbed.12638.
14. Molecular detection and genomic characterization of porcine circovirus 3 in pigs from Northeast China. Z. Ha, C.-Z. Xie, J.-F. Li [et al.]. *Vet. Res.* 2018; 14:321; DOI: 10.1186/s12917-018-1634-6.
15. Porcine circovirus type 3 (PCV3) infection in grower pigs from a Thai farm suffering from porcine respiratory disease complex (PRDC). R. Kedkovid, Y. Woonwong, J. Arunorat [et al.]. *Vet. Microbiol.* 2018; 215: 71–76; DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.01.004.
16. Prevalence of novel porcine circovirus 3 in Korean pig populations. T. Kwon, S. J. Yoo, C.-K. Park, Y. S. Lyoo. *Vet. Microbiol.* 2017; 207: 178–180; DOI: 10.1016/j.vetmic.2017.06.013.

REFERENCE

1. Use of AEROSIL A-300 and GF/F (GF/C) filter for purifying fragments of DNA, plasmid DNA and RNA [Ispol'zovanie aerosila A-300 i fil'trov GF/F (GF/C) dlya ochistki fragmentov DNK, DNK-plazmid i RNK]. O. G. Gribov, A. V. Shcherbakov, N. A. Perevozchikova, A. A. Gusev. *Biochemistry (Moscow)*. 1996; 61 (6): 1064–1070 (in Russian).
2. Timina A. M. Development of methods for porcine circovirus infection diagnosis in pigs [Razrabotka metodov laboratornoj diagnostiki cirkovirusnoj infekcii svinej]: author's abstract, PhD theses. Vladimir, 2006 (in Russian).
3. A novel porcine circovirus distantly related to known circoviruses is associated with porcine dermatitis and nephropathy syndrome and reproductive failure. R. Palinski, P. Piñeyro, P. Shang [et al.]. *J. Virol.* 2017; 91 (1):e01879-16; DOI: 10.1128/JVI.01879-16.
4. Collins P. J., McKillen J., Allan G. Porcine circovirus type 3 in the UK. *Vet. Rec.* 2017; 181 (22): 599; DOI:10.1136/vr.j5505.
5. Detection and genetic characterization of porcine circovirus type 3 in Italy. S. Faccini, I. Barbieri, A. Gilioli [et al.]. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): 1661–1664; DOI: 10.1111/tbed.12714.

Поступила 28.05.19
Принята в печать 21.08.19

CONCOMITANT FACTORS AFFECTING GESTATION LENGTH AND PERINATAL MORTALITY IN HOLSTEIN-FRIESIAN COWS

N. M. Bogas¹, A. V. Sherasiya², J. C. Simões³

¹ Veterinarian, The Veterinary and Animal Research Centre (CECAV), University of Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal, e-mail: neca.smb@gmail.com

² Veterinarian, Ex-Veterinary Officer, Wankaner, India, e-mail: sherasiyaanjum@gmail.com; ORCID ID 0000-0002-1598-1820

³ PhD, The Veterinary and Animal Research Centre (CECAV), Department of Veterinary Sciences, University of Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, Portugal, e-mail: jsimoes@utad.pt; ORCID ID 0000-0002-4997-3933

SUMMARY

The objective of this study was to identify and quantify factors presenting simultaneous moderate or strong influence on gestation length and perinatal mortality (until 4 days postpartum) in Holstein-Friesian dams. The overall gestation length least square mean was 278.2 ± 0.2 days ($n = 962$). According to the multivariate model ($p < 0.001$), a shorter gestation length was observed in Holstein-Friesian (-2.0 days) and Red Holstein-Friesian (-3.9 days) breed sires whereas Brown Swiss (2.0 days) and Aberdeen-Angus (2.3 days) breed sires showed a longer gestation length. Primiparous cows and twin pregnancies, as well calving in June and July, shortened gestation length in -1.4 , -4.0 , -1.9 and -1.8 days, respectively. The perinatal mortality incidence was 7.4% ($n = 72$) and was more likely to occur in twin pregnancies ($p < 0.01$) than in pregnancies carrying female (odds ratio = 8.1) or male (odds ratio = 7.9) singletons, as well in primiparous (odds ratio = 2.6) than multiparous dams ($p < 0.05$). In conclusion, parity and twinning were the major factors which influenced simultaneously gestation length of dams and perinatal mortality incidence. Nevertheless, all studied factors had a significant impact on gestation length and should be considered for reproductive management programs of dairy herds.

Key words: breed sire, dairy cows, herd health, perinatal mortality, pregnancy, twinning.

УДК 619:636.234.2:636.22/.28.082.455:618.2/.7

СОПУТСТВУЮЩИЕ ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ СТЕЛЬНОСТИ И ПЕРИНАТАЛЬНУЮ СМЕРТНОСТЬ У КОРОВ ГОЛШТИНО-ФРИЗСКОЙ ПОРОДЫ

N. M. Bogas¹, A. V. Sherasiya², J. C. Simões³

¹ Ветеринарный врач, Научно-исследовательский центр ветеринарии и изучения животных (CECAV),

Университет Траз-уж-Монтиш и Алту-Дору, Вила-Реал, Португалия, e-mail: neca.smb@gmail.com

² Ветеринарный врач, экс-ветеринарный инспектор, Ванканер, Индия, e-mail: sherasiyaanjum@gmail.com; ORCID ID 0000-0002-1598-1820

³ PhD, Научно-исследовательский центр ветеринарии и изучения животных (CECAV), факультет ветеринарии,

Университет Траз-уж-Монтиш и Алту-Дору, Вила-Реал, Португалия, e-mail: jsimoes@utad.pt; ORCID ID 0000-0002-4997-3933

РЕЗЮМЕ

Цель данного исследования состояла в идентификации и количественном определении факторов, оказывающих умеренное или сильное воздействие одновременно на продолжительность стельности (GL) и перинатальную смертность (в период до 4 суток после рождения) у коров голштино-фризской породы. Общее наименьшее среднеквадратичное значение продолжительности стельности (GL) составило $278,2 \pm 0,2$ суток ($n = 962$). В соответствии с многомерной моделью ($p < 0,001$) при оплодотворении быками-производителями голштино-фризской и красной голштино-фризской пород продолжительность стельности коров была короче ($-2,0$ суток и $-3,9$ суток соответственно), тогда как при осеменении быками-производителями бурой швицкой и абердин-ангусской пород продолжительность стельности была дольше на $2,0$ суток и $2,3$ суток соответственно. У первотелок и при двуплодной стельности, а также при отеле в июне и июле продолжительность стельности сокращалась на $-1,4$; $-4,0$; $-1,9$ и $-1,8$ суток соответственно. Инцидентность перинатальной смертности составляла $7,4\%$ ($n = 72$), и такие случаи чаще наблюдали при двуплодной стельности ($p < 0,01$), чем при одноплодной стельности телочками (относительный риск = $8,1$) или бычками (относительный риск = $7,9$), а также у первотелок (относительный риск = $2,6$) по сравнению с коровами ($p < 0,05$). В заключение необходимо отметить, что количество отелов и двуплодность были основными факторами, значимо влияющими одновременно на продолжительность стельности у коров и на инцидентность перинатальной смертности. Тем не менее все изученные факторы оказывали существенное воздействие на продолжительность стельности и должны учитываться при реализации программ по регулированию репродукции в молочных стадах.

Ключевые слова: племенной бык-производитель, дойные коровы, здоровье стада, перинатальная смертность, стельность, двуплодность.

INTRODUCTION

The calving represents an important step in dairy farms due to their influence on the immune status, health and welfare of the dam, calf survival and the following lactation. During the peripartum period, a significant immune suppression of the dam, with emphasis for lymphocytes and neutrophils depression activity, increasing the susceptibility to infectious diseases [24]. Also several herd health management practices, such as vaccination, mastitis control, dry cow procedures, and nutritional assessment in dry cow period need be taken into consideration while estimating the gestation length (GL). The determination of GL is one major key to estimate the date of calving. This GL estimation can increase some days of the lactating period and reduces the dry cow period without negative impact on the next lactation [8], representing an improved revenue and reducing puerperal diseases prevalence of dam and offspring. It has been reported that intermediate GL was related with more productive dairy cows [28] presenting fewer problems during the next lactation [25, 27]. Moreover, A. Kok et al. [8] observed that dairy cows presenting a short dry period (3 to 5 weeks) produce less 1.2 kg of milk per day than in normal dry period (6 to 8 weeks). So, despite the hormonal (e.g., progesterone, estrogens) and immunological (e.g., major histocompatibility complex I, pro-inflammatory cytokines) influences on the pregnancy maintenance and/or term [16, 18, 19, 26], environmental (e.g., sex of calf, parity of dam, climate) and genetic factors (e.g., breed) causing strong GL variation should be evaluated in different worldwide regions according to the herd management and environmental factors.

In other hand, some studies also reported the association between shorter (foetal immaturity) and longer (higher calf birth weight) GL and perinatal mortality incidence [4, 29]. Despite dystocia, GL was considered the most important predictor of stillbirth occurrence [23]. Nevertheless, some phenotypic and genetic factors which affect the GL (e.g., parity, fetal sex and twinning) also have a direct association with perinatal mortality [21, 29] and the risks also should be evaluated and quantified.

Our study aimed to evaluate and quantify the main factors which moderately or strongly affect, in simultaneous, GL and perinatal mortality in (Portuguese) Holstein-Friesian dairy cows.

MATERIAL AND METHODS

Study area. This retrospective study was carried out in a typical Portuguese small and familiar dairy herd (Lat. 41°32'58.2" N and Long. 8°33'48.7" W). According to the Köppen-Geiger climate classification [38], in this region, the climate is considered temperate with dry and mild summer and mild winter with rainfall (Mediterranean Csb).

Animals and dairy herd. All complete records were taken into consideration from June 2000 to April 2017. According to the milk yield records for 962 Holstein-Friesian cows in the dairy herd, the 305-day standardized varied from less than 8000 kg (year 2000) to more than 10,000 kg (year 2017; Pearson correlation $r = 0.31$; $n = 962$; $p < 0.001$). The main purpose of this herd was milk production, but economic revenues were complemented with meat production. At present, a total of 105 producing cows (Holstein-Friesian and some Red Holstein-Friesian, Jersey, Montbeliarde, Brown Swiss, and dairy crossbreeding breeds), 65 heifers for self-replacement and 50 steers and heifers for meat production. In 2016 (the last complete studied year), 79 dairy cows were dried in this herd. At national level,

in 2016, a total of 1676 herds presenting an average size of 52 dairy cows (reaching the dry period) per herd were evaluated for official milk recording. The 305-day standardized milk production was, in average, 9450 kg). For artificial insemination purposes, 198 sires from 8 breeds were used throughout the studied period.

Records. The following information was retrieved from the herd database from each calving throughout the studied period: 1) breed sires (Holstein-Friesian, Brown Swiss, Aberdeen-Angus, Jersey, Red Holstein-Friesian, Montbeliarde, Limousine and Belgian Blue); 2) pregnancy type and sex (twin pregnancy, single pregnancy with female singleton and single pregnancy with male singleton); 3) parity (primiparous vs multiparous cows); 4) month of calving, and; 5) year of calving.

The GL was calculated considering the difference between calving and artificial insemination dates.

The perinatal mortality incidence was calculated considering at calf mortality, including stillborn, until 4 days. For twins, the presence of mortality was considered when at least one calf died.

Statistical analysis. A full least squares model was built to test fixed effects on GL by the following formula:

$$Y_{ijk} = \mu + H_i + W_j + S_k + T_m + P_n + \epsilon_{ijklmno},$$

where Y_{ijk} = GL;

μ = overall mean;

H_i = fixed effect due to i^{th} breed sires;

W_j = fixed effect due to j^{th} pregnancy type and sex;

S_k = fixed effect due to k^{th} parity;

T_m = fixed effect due to m^{th} month;

P_n = fixed effect due to n^{th} year;

$\epsilon_{ijklmno}$ = random error.

A multivariable logistic model was also made using the Hosmer and Lemeshow method [17] to test the effect of the five dependent variables on perinatal mortality incidence. In a first step, univariate association of each one variable and the perinatal mortality incidence was tested and included on a full model if p -value < 0.25 . Nonsignificant variables, at 0.05 level for likelihood ratio tests, were successively removed and the full model was compared with the previous one. Finally, only the significant variables were considered at 0.05 level for Wald test and respective odd ratios were calculated.

The JMP11 package [36] was used for all evaluations.

RESULTS AND DISCUSSION

The estimated least square mean of GL was 278.2 ± 0.2 ($\pm$ S.E.) days and 95% interval of confidence from 277.9 to 278.6 days and was influenced by all studied factors (Fig.).

Four breed sires were found to influence significantly the GL on Holstein-Friesian dams. These findings are in agreement with the reported by H. D. Norman et al. [14] for both dairy breed sires. A longer GL on Holstein-Friesian inseminated with Belgian Blue (2.3 days) and Aberdeen Angus (2.6 days) was observed by A. M. Fitzgerald et al. [12] using a gestational age model prediction based on ultrasonography technique. R. Fouz et al. [33] also observed a significant longer GL on Holstein dams when served by Limousine (5.3 days), Belgian Blue (1.6 days) and Galician Blonde (4.5 days) than by Holstein breed sires. Even if non-significant values on GL were observed for Belgian Blue and Limousine breed sires of our study, and probably due to the low samples number of these breeds, the GL profile of crossbreeding between Holstein-Friesian and

	Term	Scaled Estimate		Std Error	Lower 95%	Upper 95%	P value
	Intercept	277.5		0.5	276.6	278.4	<0.001
Breed sire	Aberdeen-Angus (n=28)	2.3		1.0	0.4	4.2	0.02
	Belgian Blue (n=12)	0.5		1.3	-2.1	3.2	0.68
	Holstein-Friesian (n=817)	-2.0		0.4	-2.9	-1.2	<0.001
	Red Holstein-Friesian (n=19)	-3.9		1.1	-6.0	-1.8	<0.001
	Jersey (n=21)	-0.1		1.1	-2.2	2.0	0.92
	Limousine (n=13)	1.7		1.3	-0.9	4.2	0.20
	Montbeliarde (n=16)	-0.4		1.2	-2.7	1.9	0.72
	Brown Swiss (n=36)	2.0		0.8	0.3	3.6	0.02
Pregnancy /sex	Single [female] (n=451)	1.3		0.3	0.7	1.9	<0.001
	Twins (n=42)	-4.0		0.5	-5.1	-3.0	<0.001
	Single [male] (n=469)	2.8		0.3	2.2	3.4	<0.001
Parity	Multiparous (n=278)	1.4		0.2	1.0	1.7	<0.001
	Primiparous (n=675)	-1.4		0.2	-1.7	-1.0	<0.001
Month	Jan (n=96)	1.3		0.5	0.4	2.3	0.01
	Fev (n=76)	0.1		0.6	-1.0	1.1	0.92
	Mar (n=83)	0.2		0.5	-0.8	1.3	0.69
	Apr (n=90)	1.2		0.5	0.2	2.2	0.02
	Mai (n=79)	-0.5		0.5	-1.5	0.6	0.39
	Jun (n=62)	-1.9		0.6	-3.0	-0.7	0.002
	Jul (n=75)	-1.8		0.6	-2.9	-0.7	0.001
	Aug (n=93)	-0.7		0.5	-1.7	0.3	0.19
	Set (n=71)	0.2		0.6	-0.9	1.3	0.71
	Oct (n=84)	-0.3		0.5	-1.4	0.7	0.53
	Nov (n=76)	1.1		0.6	0.0	2.2	0.05
	Dec (n=77)	1.0		0.5	-0.1	2.1	0.07
Year	2000 (n=26)	0.1		0.9	-1.7	2.0	0.88
	2001 (n=49)	1.7		0.7	0.3	3.1	0.01
	2002 (n=65)	2.2		0.6	1.0	3.5	<0.001
	2003 (n=62)	0.4		0.6	-0.8	1.7	0.48
	2004 (n=54)	-0.2		0.7	-1.5	1.2	0.82
	2005 (n=49)	1.9		0.7	0.6	3.3	0.005
	2006 (n=49)	0.2		0.7	-1.1	1.6	0.74
	2007 (n=57)	0.8		0.7	-0.5	2.1	0.20
	2008 (n=61)	-0.4		0.7	-1.7	0.9	0.51
	2009 (n=59)	-1.3		0.6	-2.5	0.0	0.05
	2010 (n=50)	-0.9		0.7	-2.2	0.5	0.21
	2011 (n=56)	-0.3		0.7	-1.6	1.0	0.64
	2012 (n=49)	-0.6		0.7	-2.0	0.7	0.36
	2013 (n=53)	-0.2		0.7	-1.5	1.2	0.79
	2014 (n=63)	-0.5		0.6	-1.7	0.7	0.38
	2015 (n=67)	-0.7		0.6	-1.9	0.5	0.25
	2016 (n=77)	-1.2		0.6	-2.3	-0.1	0.04
	2017 (n=16)	-1.3		1.2	-3.7	1.2	0.31

Fig. Effects of major factors on gestation length of Holstein-Friesian cows

Table
Risk factors (odds ratios) for perinatal mortality in Holstein-Friesian cows

Groups		Odds ratio (95% CI)	p-value
level 1 (reference)	level 2		
Single pregnancy carrying female singleton	Twinning	8.1 (2.5–26.0)	0.001
Single pregnancy carrying male singleton	Twinning	7.9 (2.5–25.2)	0.002
Multiparous cows	Primiparous	2.6 (1.2–5.9)	0.02
Twinning X parity interaction			0.78

95% CI: 95% interval confidence

meat breed sires are in consonance that meat breed sires increase the GL in overall. All these results indicate a strong influence of genetic breed sire on GL.

A strong shorter GL was also observed in twins pregnancies and indicated that these two effects are the major effects which should be considered to estimate the GL. Shorter GL of twins than single pregnancies were also observed by H. D. Norman et al. [14] (–4.6 days), R. Tomasek et al. [34] (–5.2 days) and S. E. Echternkamp et al. [7] (–5.7 days). Moreover, significant differences between twins pregnancies carrying two males (277.3 ± 0.6 days) than carrying two females (274.3 ± 0.7 days) or one male and one female (273.6 ± 0.5 days) were also observed by A. Vieira-Neto et al. [2]. In our study, the GL was improved by single pregnancies carrying males (2.8 days) and females (1.3 days) and agree with longer GL (1.1 to 1.8 days) observed in other studies [25, 31, 34]. It is known that the median litter size is negatively correlated with GL in species carrying multiple fetuses [10, 11, 31] due to several factors, such as endocrine and physical patterns. In cows, A. Vieira-Neto et al. [2] also suggested a slowest development of hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in males during the last days of pregnancy.

In our study, primiparous showed shorter GL than multiparous cows, in agreement with other studies [2, 14, 25]. The shorter GL observed in primiparous cows are probably related to the calf weight [15] which increase quickly in the last two weeks of gestation [37].

The heat stress seems to play an important role in GL in temperate and hot climates. In our study, a shorter GL was observed in June (–1.9) and July (–1.8) whereas in several months in fall and winter the GL was longer. Similar profile findings were observed in other studies [2, 25, 30, 32, 34]. Probably, the heat stress improves the foetal stress [9, 35], a key step to induce the natural calving.

The present study evidenced a consistent GL decrease throughout the study period. This observation can be related, at least in part, with the improvement of milk production observed in the farm. The GL profile is in agreement with the observed by A. Kumar et al. [13], which observed a difference of 3.3 days between 1978 and 2013.

The overall perinatal mortality incidence was 7.38% (71/962). Regarding the final multivariable logistic model ($p < 0.001$; Table) of our study, only the twinning and parity of females showed significant effects on perinatal mortality incidence. Some studies [2, 27] reported that perinatal mortality incidence was higher for shorter and longer GL than for median GL. However, primary factors such as parity and twinning can partially explain these variations. Even if longer GL can be related with high calf weight, greater

dystocia incidence and stillbirth occurrence [23], twins have more chances to present dystocia and consequently, perinatal mortality [29]. Although J. F. Mee et al. [22] classified parity and twinning as non-modifiable risk factors, twin reduction can be induced to mitigate their adverse effects in dairy farms [1, 20].

In our study, other than month and year effects, no significant effects of breed sires on perinatal mortality incidence were also observed. Nevertheless, these results should be interpreted with caution due to the low number samples of crossbreeding involving non Holstein-Friesian sires, and further research is warranted. In fact, calf birth weight, as well dystocia occurrence can be influenced by crossbreeding [3, 5, 6].

CONCLUSION

The breed sire, twinning, parity of cows and month of calving in temperate climate are factors that should be taken into account for GL estimation in Holstein-Friesian cows.

Mainly twinning, but also parity, concomitantly play a major role in perinatal mortality incidence and should be considered for the herd health management program of dairy farms. We also suggest the inclusion of early ultrasonographic diagnosis of twins in reproductive programs at individual level.

Conflict of interest. The authors declare that there is no conflict of interest.

Acknowledgments. This work was funded by the project UID/CVT/00772/2019 supported by the Portuguese Science and Technology Foundation (FCT).

REFERENCES

1. An economic evaluation of management strategies to mitigate the negative effect of twinning in dairy herds / R. Mur-Novales, F. Lopez-Gatius, P. M. Fricke, V. E. Cabrera // J. Dairy Sci. – 2018. – Vol. 101 (9). – P. 8335–8349; DOI: 10.3168/jds.2018-14400.
2. Association among gestation length and health, production, and reproduction in Holstein cows and implications for their offspring / A. Vieira-Neto, K. N. Galvão, W. W. Thatcher, J. E. P. Santos // J. Dairy Sci. – 2017. – Vol. 100 (4). – P. 3166–3181; DOI: 10.3168/jds.2016-11867.
3. Birth traits of pure Holstein calves versus Montbeliarde-sired crossbred calves / B. J. Heins, L. B. Hansen, A. R. Hazel [et al.] // J. Dairy Sci. – 2010. – Vol. 93 (5). – P. 2293–2299; DOI: 10.3168/jds.2009-2911.
4. Bleul U. Risk factors and rates of perinatal and postnatal mortality in cattle in Switzerland // Livest. Sci. – 2011. – Vol. 135 (2–3). – P. 257–264; DOI: 10.1016/j.livsci.2010.07.022.
5. Calf birth weight, gestation length, calving ease, and neonatal calf mortality in Holstein, Jersey, and crossbred cows in a pasture system / K. Dhakal, C. Maltecca, J. P. Cassady [et al.] // J. Dairy Sci. – 2013. – Vol. 96 (1). – P. 690–698; DOI: 10.3168/jds.2012-5817.

6. Dystocia, stillbirth, gestation length, and birth weight in Holstein, Jersey, and reciprocal crosses from a planned experiment / K. M. Olson, B. G. Cassell, A. J. McAllister, S. P. Washburn // *J. Dairy Sci.* – 2009. – Vol. 92 (12). – P. 6167–6175; DOI: 10.3168/jds.2009-2260.
7. Echternkamp S. E., Gregory K. E. Effects of twinning on gestation length, retained placenta, and dystocia // *J. Anim. Sci.* – 1999. – Vol. 77 (1). – P. 39–47; DOI: 10.2527/1999.77139x.
8. Effect of dry period length on milk yield over multiple lactations / A. Kok, A. T. M. van Knegsel, C. E. van Middelaar [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2017. – Vol. 100 (1). – P. 739–749; DOI: 10.3168/jds.2016-10963.
9. Effect of heat stress during late gestation on immune function and growth performance of calves: isolation of altered colostral and calf factors / A. P. Monteiro, S. Tao, I. M. Thompson, G. E. Dahl // *J. Dairy Sci.* – 2014. – Vol. 97 (10). – P. 6426–6439; DOI: 10.3168/jds.2013-7891.
10. Factors affecting days open, gestation length, and calving interval in Florida dairy cattle / H. M. Silva, C. J. Wilcox, W. W. Thatcher [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 1992. – Vol. 75 (1). – P. 288–293; DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(92)77764-9.
11. Factors affecting gestation duration in the bitch / B. E. Eilts, A. P. Davidson, G. Hosgood [et al.] // *Theriogenology*. – 2005. – Vol. 64 (2). – P. 242–251; DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.11.007.
12. Fitzgerald A. M., Ryan D. P., Berry D. P. Factors associated with the differential in actual gestational age and gestational age predicted from transrectal ultrasonography in pregnant dairy cows // *Theriogenology*. – 2015. – Vol. 84 (3). – P. 358–364; DOI: 10.1016/j.theriogenology.2015.03.023.
13. Genetic and environmental causes of variation in gestation length of Jersey crossbred cattle / A. Kumar, A. Mandal, A. K. Gupta, P. Ratwan // *Vet. World*. – 2016. – Vol. 9 (4). – P. 351–355; DOI: 10.14202/vet-world.2016.351-355.
14. Genetic and environmental factors that affect gestation length in dairy cattle / H. D. Norman, J. R. Wright, M. T. Kuhn [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2009. – Vol. 92 (5). – P. 2259–2269; DOI: 10.3168/jds.2007-0982.
15. Gestation length in Danish Holsteins has weak genetic associations with stillbirth, calving difficulty, and calf size / M. Hansen, M. S. Lund, J. Pedersen, L. G. Christensen // *Livest. Prod. Sci.* – 2004. – Vol. 91 (1–2). – P. 23–33; DOI: 10.1016/j.livprodsci.2004.06.007.
16. Hansen P. J. Physiology and Endocrinology Symposium: maternal immunological adjustments to pregnancy and parturition in ruminants and possible implications for postpartum uterine health: is there a prepartum-postpartum nexus? // *J. Anim. Sci.* – 2013. – Vol. 91 (4). – P. 1639–1649; DOI: 10.2527/jas.2012-5934.
17. Hosmer D. W., Lemeshow S. Applied logistic regression. – 2nd ed. – USA: Wiley, 1989. – 320 p.
18. Investigations into the mechanisms controlling parturition in cattle / S. Shenavai, S. Preissing, B. Hoffmann [et al.] // *Reproduction*. – 2012. – Vol. 144 (2). – P. 279–292; DOI: 10.1530/REP-11-0471.
19. Kimura K., Reinhardt T. A., Goff J. P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle // *J. Dairy Sci.* – 2006. – Vol. 89 (7). – P. 2588–2595; DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(06)72335-9.
20. Lopez-Gatius F., Hunter R. H. F. Puncture and drainage of the subordinate follicles at timed artificial insemination prevents the risk of twin pregnancy in dairy cows / *Reprod. Domest. Anim.* – 2018. – Vol. 53 (1). – P. 213–216; DOI: 10.1111/rda.13094.
21. Mee J. F., Berry D. P., Cromie A. R. Risk factors for calving assistance and dystocia in pasture-based Holstein-Friesian heifers and cows in Ireland // *Vet. J.* – 2011. – Vol. 187 (2). – P. 189–194; DOI: 10.1016/j.tvjl.2009.11.018.
22. Mee J. F., Sánchez-Miguel C., Doherty M. Influence of modifiable risk factors on the incidence of stillbirth/perinatal mortality in dairy cattle // *Vet. J.* – 2014. – Vol. 199 (1). – P. 19–23; DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.08.004.
23. Meyer C. L., Berger P. J., Koehler K. J. Interactions among factors affecting stillbirths in Holstein cattle in the United States // *J. Dairy Sci.* – 2000. – Vol. 83 (11). – P. 2657–2663; DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(00)75159-9.
24. Mordak R., Stewart P. A. Periparturient stress and immune suppression as a potential cause of retained placenta in highly productive dairy cows: examples of prevention // *Acta Vet. Scand.* – 2015. – Vol. 57:84; DOI: 10.1186/s13028-015-0175-2.
25. Nogalski Z., Piwczyński D. Association of length of pregnancy with other reproductive traits in dairy cattle // *Asian-Australas J. Anim. Sci.* – 2012. – Vol. 25 (1). – P. 22–27; DOI: 10.5713/ajas.2011.11084.
26. Non-classical major histocompatibility complex class makes a crucial contribution to reproduction in the dairy cow / L. Shu, X. Peng, S. Zhang [et al.] // *J. Reprod. Dev.* – 2012. – Vol. 58 (5). – P. 569–575; DOI: 10.1262/jrd.2011-018.
27. Norman H. D., Wright J. R., Miller R. H. Potential consequences of selection to change gestation length on performance of Holstein cows // *J. Dairy Sci.* – 2011. – Vol. 94 (2). – P. 1005–1010; DOI: 10.3168/jds.2010-3732.
28. Phenotypic associations between gestation length and production, fertility, survival, and calf traits / G. M. Jenkins, P. Amer, K. Stachowicz, S. Meier // *J. Dairy Sci.* – 2016. – Vol. 99 (1). – P. 418–426; DOI: 10.3168/jds.2015-9934.
29. Prevalence, risk factors and consequent effect of dystocia in Holstein dairy cows in Iran / H. Atashi, A. Abdolmohammadi, M. Dadpasand, A. Asaadi // *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* – 2012. – Vol. 25 (4). – P. 447–451; DOI: 10.5713/ajas.2011.11303.
30. Relationships between calving traits in heifers and mature cows in Australia / S. McClintock, K. Beard, A. R. Gilmour, M. Goddard // *Interbull. Bull.* – 2003. – Vol. 31 – P. 102–106.
31. Rydhmer L., Lundeheim N., Canario L. Genetic correlations between gestation length, piglet survival and early growth // *Livest. Sci.* – 2008. – Vol. 115 (2–3). – P. 287–293; DOI: 10.1016/j.livsci.2007.08.014.
32. Tao S., Dahl G. E. Invited review: Heat stress effects during late gestation on dry cows and their calves // *J. Dairy Sci.* – 2013. – Vol. 96 (7). – P. 4079–4093; DOI: 10.3168/jds.2012-6278.
33. The use of crossbreeding with beef bulls in dairy herds: effects on calving difficulty and gestation length / R. Fouz, F. Gandoy, M. L. Sanjuán [et al.] // *Animal*. – 2013. – Vol. 7 (2). – P. 211–215; DOI: 10.1017/S1751731112001656.
34. Tomasek R., Rezac P., Havlicek Z. Environmental and animal factors associated with gestation length in Holstein cows and heifers in two herds in the Czech Republic // *Theriogenology*. – 2017. – Vol. 87. – P. 100–107; DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.08.009.
35. Uetake K., Akiyama K., Tanaka T. Relationship between stress levels of the antepartum cow and her newborn calf // *Anim. Sci. J.* – 2014. – Vol. 85 (1). – P. 81–84; DOI: 10.1111/asj.12078.
36. Using JMP® 11 / SAS Institute Inc. – 2nd ed. – Cary: SAS Institute Inc., 2013. – 526 p.; URL: <https://support.sas.com/documentation/onlinedoc/jmp/11.1/UsingJMP.pdf>.
37. Villarroel A., Lane V. M. Effect of systematic parturition induction of long gestation Holstein dairy cows on calf survival, cow health, production, and reproduction on a commercial farm // *Can. J. Vet. Res.* – 2010. – Vol. 74 (2). – P. 136–144; PMID: PMC2851724.
38. World map of the Köppen-Geiger climate classification updated / M. Kottek, J. Grieser, C. Beck [et al.] // *Meteorol. Z.* – 2006. – Vol. 15 (3). – P. 259–623; DOI: 10.1127/0941-2948/2006/0130.

Submitted on 03.06.19

Approved for publication on 16.07.19

ПОКАЗАТЕЛИ ЭПИЗООТИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ ЯЩУРЕ В РОССИИ В ПЕРИОД С 2010 ПО I КВАРТАЛ 2019 Г.

В. П. Семакина¹, Т. П. Акимова², А. К. Караулов³

¹ Ведущий ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: semakina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-4078-4458

² Ветеринарный врач, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: akimova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3502-1146

³ Руководитель ИАЦ, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: karaulov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5731-5762

РЕЗЮМЕ

Ящур – вирусная высококонтагиозная болезнь парнокопытных сельскохозяйственных и диких животных. Благополучными по ящуру долгие годы являются страны Европы, Северной Америки и Океании, однако вирус широко распространен в странах Азии и Африки. За период с 2010 по март 2019 г. о неблагополучии по данной инфекции во Всемирную организацию здравоохранения животных (МЭБ) сообщили 89 стран мира. В отдельных регионах Российской Федерации на протяжении этого периода также регистрировали локальные вспышки ящура. Целью исследований было изучение некоторых показателей эпизоотического процесса при вспышках ящура на территории Российской Федерации. Проведенный эпизоотологический анализ охватывает регионы России, в которых регистрировали вспышки ящура с 2010 по март 2019 г. За анализируемый период случаи ящура зарегистрированы в 9 регионах Российской Федерации, в основном в населенных пунктах, находящихся в непосредственной близости от российско-китайской и российско-монгольской государственных границ. Наибольшее число очагов было вызвано вирусом ящура серотипов О и А. Чаще всего ящур регистрировали у крупного рогатого скота и свиней, реже – у овец и коз. Анализ эпизоотической ситуации по ящуру на территории субъектов России проводили путем оценки эпизоотического процесса, вычисляя следующие показатели: долю неблагополучных пунктов, показатели эпизоотичности, очаговости и заболеваемости. По количеству неблагополучных населенных пунктов лидируют Забайкальский и Приморский края. Самый высокий коэффициент заболеваемости свиней отмечен в Приморском крае, крупного рогатого скота – в Амурской области. Наибольший показатель индекса эпизоотичности отмечен в Приморском и Забайкальском краях. В Приморском крае также отмечены самые высокие коэффициенты очаговости по ящуру в 2014 и 2019 гг., когда ящур был отмечен на нескольких крупных свинофермах.

Ключевые слова: ящур, вирус, неблагополучные пункты, очаги, заболеваемость, анализ, эпизоотическая ситуация.

UDC 619:616.98:578.835.2:616-036.22(470)

FMD EPIDEMIC PROCESS CHARACTERISTICS IN RUSSIA IN 2010 – FIRST QUARTER OF 2019

V. P. Semakina¹, T. P. Akimova², A. K. Karaulov³

¹ Leading Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: semakina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-4078-4458

² Veterinarian, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: akimova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3502-1146

³ Head of Information Analysis Centre, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: karaulov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5731-5762

SUMMARY

Foot-and-mouth disease is a highly contagious viral disease of cloven-hoofed livestock and wild animals. Europe, North America and Oceania have long been FMD free; at the same time, the virus is widely spread in Asian and African countries. In the period from 2010 to March 2019, FMD was notified to the World Organisation for Animal Health (OIE) by 89 countries of the world. Local FMD outbreaks were also reported in several regions of the Russian Federation throughout this period. The research was aimed at studying some characteristics of the FMD epidemic process in the Russian Federation. The undertaken epidemiological analysis covers the Russian Federation regions where FMD outbreaks were reported between 2010 and March 2019. During the period under consideration, FMD cases were reported in 9 regions of the Russian Federation, mainly in the settlements located in close proximity to the Russia-China and Russia-Mongolia international borders. Most of the outbreaks were caused by serotype O and A FMD viruses. In most cases, FMD was reported in cattle and pigs and, less frequently, in sheep and goats. The analysis of the FMD epidemic situation in the Russian Federation Subjects was performed through epidemic process assessment based on the following estimates: the proportion of infected settlements, epidemic, contagiousness and morbidity rates. The Zabaykalsky and Primorsky Krai have a lead in the number of infected settlements. The highest morbidity rate in pigs was recorded in the Primorsky Krai, in cattle – in the Amur Oblast. The epidemic rate was the highest in the Primorsky and Zabaykalsky Krai. The Primorsky Krai also accounted for the highest contagiousness rates in 2014 and 2019 when FMD occurred on several large pig farms.

Key words: foot-and-mouth disease, virus, infected settlements, outbreak areas, morbidity, analysis, epidemic situation.

ВВЕДЕНИЕ

Возбудителем ящура является вирус, относящийся к семейству *Picornaviridae*, роду *Aphthovirus*. К ящуру чувствительны более 100 видов домашних и диких парнокопытных животных. Заболевание характеризуется афтозными поражениями слизистых оболочек, выстланных многослойным эпителием, и бесшерстных участков кожи. Проявление клинических признаков может варьировать от легкой до тяжелой степени. Из сельскохозяйственных животных тяжелее остальных видов болеют ящуром крупный рогатый скот и свиньи [3]. Наиболее выраженная клиническая картина при ящуре наблюдается у крупного рогатого скота. У овец и коз, напротив, клинические признаки ящура часто проявляются слабо. Основным признаком ящура у мелкого рогатого скота является хромота.

Ящур относится к числу особо опасных трансграничных болезней и подлежит обязательной нотификации во Всемирную организацию здравоохранения животных (МЭБ). Заболевание может протекать в форме эпизоотий и панзоотий с тяжелыми экономическими и социальными последствиями [1, 8]. В эпизоотическом плане болезнь зависит от уровня чувствительности, типа выращивания, плотности и размера популяций, а также от связи между ними [8].

Довольно продолжительное время благополучными по ящуру являются большинство стран европейского региона и Америки, а также Океания. В то же время анализ данных МЭБ и сообщений средств массовой информации (СМИ) свидетельствует о том, что, несмотря на принимаемые меры, эпизоотическая ситуация по ящуру в мире остается достаточно напряженной и занос ящура возможен в любую страну в любое время. По официальным данным МЭБ, в период с 2010 по март 2019 г. неблагополучными по ящуру были 87 стран, из них 43 африканские, 36 азиатских, 4 американские и 4 европейские [9].

Наибольшее влияние на эпизоотическую ситуацию по ящуру в Российской Федерации оказывают такие приграничные государства, как Монголия и Китай, особенно учитывая интенсивные торговые связи России с этими странами. И в той, и в другой стране за последние 10 лет зарегистрировано более 130 очагов заражения животных этой инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор сведений об эпизоотической ситуации по ящуру в России выполняли на основе материала базы данных МЭБ по уведомлению, размещаемым в информационных системах WAHID/WAHIS, а также отчетов субъектов ветеринарных служб в ФГБУ «Центр ветеринарии» [9, 10]. Анализ эпизоотической ситуации по ящуру на территории субъектов России проводили путем оценки эпизоотического процесса, для чего вычисляли следующие показатели: долю неблагополучных пунктов, показатели эпизоотичности, очаговости и заболеваемости.

Долю неблагополучных пунктов определяли путем вычисления процентного отношения неблагополучных по ящуру населенных пунктов к общему числу населенных пунктов на конкретной административной территории; индекс эпизоотичности – путем деления продолжительности времени случаев к продолжительности анализируемого периода времени. Коэффициент очаговости вычисляли путем определения среднего числа больных животных в неблагополучных

пунктах; заболеваемость – путем деления числа заболевших животных к общему числу восприимчивых животных [4–7].

Все расчеты в статье произведены по имеющейся официальной информации.

В тексте используются понятия эпизоотического очага и неблагополучного пункта. Очаг – это любой объект/место, где обнаружены источники возбудителя конкретной инфекционной болезни, из которого в данных условиях возможны его передача и дальнейшее распространение среди восприимчивых животных [6]. При проведении исследования неблагополучным считали любой населенный пункт, на территории которого был зарегистрирован хотя бы один случай заболевания животных ящуром.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На протяжении последних десяти лет неблагополучие по ящуру на территории Российской Федерации отмечали ежегодно. В 2015 г. новых очагов заболевания в России зарегистрировано не было, однако неблагополучным оставалось село Кути Забайкальского края. С 2010 по март 2019 г. ящур в основном отмечали в регионах России, имеющих общую границу с неблагополучными по заболеванию странами. Очаги инфекции возникали главным образом в населенных пунктах, находящихся в непосредственной близости от российско-китайской и российско-монгольской государственных границ. В 2016, а затем в 2017 г. были зарегистрированы случаи заболевания животных в российских регионах, которые ранее были признаны МЭБ благополучными по ящуру (таблица 1), в результате чего для России было приостановлено действие статуса страны с благополучной зоной по ящуру без вакцинации. Этот статус был восстановлен лишь в мае 2019 г.

За исследуемый период вспышки ящура зарегистрированы в 9 регионах России. Стоит отметить, что в 7 из них неблагополучие по ящуру отмечали единоразово (в течение одного календарного года), лишь в Забайкальском и Приморском краях ящур выявляли неоднократно.

Возникновение наибольшего числа очагов за анализируемый период было вызвано вирусом ящура серотипа О. В Забайкальском крае отмечено два серотипа – О и А. В остальных регионах регистрировали по одному типу вируса (А, О или Азия-1) (табл. 1).

В таблицах 2–5 представлены результаты анализа эпизоотической ситуации по ящуру на территории России в период с 2010 по март 2019 г.

По числу заболевших животных в очагах, как и по количеству восприимчивых животных, лидирует Приморский край, где в 2019 г. ящур был отмечен на нескольких крупных свинофермах. Однако вызывают сомнения данные о количестве заболевших животных в них, так как на двух свинокомплексах в январе 2019 г. отмечена 100%-я заболеваемость ящуром.

На такой показатель, как заболеваемость, значительное влияние оказывает не только точность предоставленной ветеринарной службой информации об инфицированном поголовье, но и своевременность постановки диагноза. В России при вспышке ящура проводят немедленный убой (уничтожение) всех восприимчивых животных в очагах. Тот факт, что при более ранней диагностике и принятии санитарно-ограничительных мер заболеваемость будет ниже, чем в случае

Таблица 1
Ящур в регионах Российской Федерации с 2010 по март 2019 г. [9]

Регион (серотип)	Количество очагов в год										Итого
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	
Амурская область (А)	–	–	–	6	–	–	–	–	–	–	6
Владимирская область (Азия-1)	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	1
Забайкальский край (А)	–	–	–	9	3	0	0	–	–	–	12
Забайкальский край (О)	2	1	–	–	1	0	3	–	5	1	13
Кабардино-Балкарская Республика (А)	–	–	–	1	–	–	–	–	–	–	1
Карачаево-Черкесская Республика (А)	–	–	–	2	–	–	–	–	–	–	2
Краснодарский край (А)	–	–	–	3	–	–	–	–	–	–	3
Приморский край (О)	–	–	2	–	7	–	–	–	–	15	24
Республика Башкортостан (О)	–	–	–	–	–	–	–	5	–	–	5
Хабаровский край (О)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1	1
Итого	2	1	2	21	11	0	4	5	5	17	68

Таблица 2
Итоговые статистические показатели, характеризующие эпизоотический процесс при ящуре в Российской Федерации с 2010 по март 2019 г.

Регион	Число животных в очагах [9]	Число заболевших животных [9]	Общее число населенных пунктов [2]	Количество неблагополучных пунктов [9]	Доля неблагополучных пунктов (%)	Индекс эпизоотичности
Амурская область	2071	457	643	5	0,77	0,1
Владимирская область	814	90	2524	1	0,04	0,1
Забайкальский край	29 010	3542	858	19	2,21	0,7
Кабардино-Балкарская Республика	2127	23	180	1	0,55	0,1
Карачаево-Черкесская Республика	896	130	149	2	1,34	0,1
Краснодарский край	395	16	1766	3	0,17	0,1
Приморский край	96 575	90 213	684	17	2,49	0,3
Республика Башкортостан	241	94	4556	5	0,11	0,1
Хабаровский край	1751	159	430	1	0,23	0,1

естественного развития эпизоотического процесса, сомнений не вызывает.

Коэффициент заболеваемости был рассчитан для каждого вида восприимчивых животных в очагах в разрезе 10 лет и по регионам.

Как упоминалось выше, наибольшая заболеваемость отмечена среди свиней в 2019 г. Высокий показатель также зарегистрирован среди мелкого рогатого скота в 2017 г. и свиней в 2014 г. В стадах крупного рогатого скота коэффициент заболеваемости варьирует от 4% в 2014 г. до 50% в 2018 г. (табл. 3).

В расчетах по регионам самый высокий коэффициент заболеваемости свиней отмечен в Приморском крае, мелкого рогатого скота – в Республике

Башкортостан, крупного рогатого скота – в Амурской области (табл. 4).

Чаще всего ящур регистрировали у крупного рогатого скота (47%) и свиней (34%). В 19% случаев ящур зарегистрирован в очагах, где содержались смешанные стада животных: крупный рогатый скот и свиньи или крупный и мелкий рогатый скот (рис. 1).

При проведении исследования неблагополучным считали любой населенный пункт, на территории которого был зарегистрирован хотя бы один случай заболевания животных ящуром. Наибольшее количество неблагополучных пунктов за почти 10-летний период отмечено в Забайкальском и Приморском краях. Наименьшее число неблагополучных

Таблица 3
Коэффициент заболеваемости ($k_{\text{забол.}}$) при ящуре в Российской Федерации по годам

Год	КРС		МРС		Свиньи	
	Количество заболевших / восприимчивых	$k_{\text{забол.}}$ %	Количество заболевших / восприимчивых	$k_{\text{забол.}}$ %	Количество заболевших / восприимчивых	$k_{\text{забол.}}$ %
2010	207/2351	9	52/662	8	99/232	43
2011	183/1518	12	—	—	1/73	1
2012	89/609	15	22/47	47	—	—
2013	2066/16 691	12	154/385	40	11/255	4
2014	199/5281	4	—	—	14 874/20 045	74
2015	Новые очаги не регистрировали					
2016	480/2338	20			—	—
2017	15/161	9	79/81	97	—	—
2018	636/1263	50	15/1070	1	—	—
I кв. 2019	—	—	—	—	75 365/77 589	99

Таблица 4
Коэффициент заболеваемости при ящуре по регионам Российской Федерации в 2010 – марте 2019 г.

Регион	Вид животного	Количество восприимчивых	Количество заболевших	Коэффициент заболеваемости, %
Амурская область	КРС	1561	296	19
	МРС	385	154	40
	свиньи	125	7	5,5
Владимирская область	КРС	814	90	11
Забайкальский край	КРС	23 065	3222	14
	МРС	1732	67	4
	свиньи	3843	249	6,5
Кабардино-Балкарская Республика	КРС	2721	234	1
Карачаево-Черкесская Республика	КРС	896	130	14,5
Краснодарский край	КРС	395	16	4
Приморский край	КРС	609	89	14,5
	МРС	47	22	47
	свиньи	95 886	90 080	94
Республика Башкортостан	КРС	160	15	9,5
	МРС	81	79	97,5
Хабаровский край	свиньи	1751	159	9

пунктов (от 1 до 2) выявлено в 4 регионах России: во Владимирской области, Хабаровском крае, в Карачаево-Черкесии и Кабардино-Балкарии. В остальных регионах отмечено от 3 до 5 неблагополучных пунктов: в Краснодарском крае, Амурской области и Республике Башкортостан.

Распространенность болезни в каждом регионе страны определяли путем вычисления доли неблагополучных пунктов – отношения числа неблагополучных населенных пунктов к общему числу населенных пунктов в регионе (области, крае, республике) [6, 7]. По результатам подсчетов выявлено, что наибольшее

распространение ящура получил в Приморском и Забайкальском краях, а также в Карачаево-Черкесской Республике, где заболевание было зарегистрировано в 2013 г. (рис. 2).

Для выявления степени неблагополучия вычисляли индекс эпизоотичности и коэффициент очаговости.

Индекс эпизоотичности – ретроспективный показатель напряженности эпизоотической ситуации. Характеризует временное проявление болезни, т. е. оценивает эпизоотическую ситуацию по времени [8]. В исследовании данный показатель вычисляли как отношение числа лет, в течение которых на данной конкретной территории регистрировали болезнь, к числу лет наблюдения. Сравнительная оценка индекса эпизоотичности по регионам Российской Федерации, в которых за анализируемый период регистрировали случаи ящура, показана на рисунке 3.

Средний показатель индекса эпизоотичности в регионах, где регистрировали вспышки ящура, равен 0,19. В Забайкальском и Приморском краях показатель индекса эпизоотичности выше среднего.

Коэффициент очаговости отражает интенсивность течения и характер проявления эпизоотического процесса. Его определяли путем деления количества заболевших животных на число неблагополучных пунктов в разрезе региона. Данный показатель был вычислен по каждому году анализируемого периода (табл. 3). В Забайкальском крае коэффициент очаговости колеблется от 202,3 в 2013 г. до 2 в 2019 г. В Приморском крае, напротив, отмечен рост данного показателя с 55,5 в 2012 г. до 5372,6 в 2019 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На территории Российской Федерации с 2010 по 2019 г. ветеринарные специалисты ежегодно отмечали неблагополучие по ящуру. В анализируемый период (2010 – март 2019 г.) ящур в основном регистрировали в регионах России, имеющих общую границу с неблагополучными по заболеванию странами.

За указанный период заболевание животных ящуром отмечено в 9 регионах страны: Амурской и Владимирской областях, Республике Башкортостан, Кабардино-Балкарии и Карачаево-Черкесии, Забайкальском, Краснодарском, Приморском и Хабаровском краях. Наибольшее число очагов было вызвано вирусом ящура серотипов О и А (43 и 24 очага соответственно). Один очаг ящура серотипа Азия-1 зарегистрирован в 2016 г.

В период с 2010 по I квартал 2019 г. включительно наиболее часто ящур регистрировали у крупного рогатого скота (47%) и свиней (34%). В 19% случаев ящур выявлен в очагах, где содержались смешанные стада животных (крупный рогатый скот и свиньи или крупный и мелкий рогатый скот). По количеству неблагополучных населенных пунктов лидируют Забайкальский и Приморский края. Также в этих регионах наибольшее число заболевших и уничтоженных животных.

Самый высокий коэффициент заболеваемости свиней отмечен в Приморском крае, крупного рогатого скота – в Амурской области, а мелкого рогатого скота – в Республике Башкортостан. Наибольший показатель индекса эпизоотичности отмечен в Забайкальском и Приморском краях. В семи остальных субъектах данный показатель равнялся 0,1. Средний показатель индекса эпизоотичности в регионах, где регистрировали вспышки ящура, равен 0,19. Наибольшее



Рис. 1. Соотношение зарегистрированных случаев ящура у разных видов животных в Российской Федерации в период с 2010 по март 2019 г.

распространение ящура отмечено в Приморском и Забайкальском краях, а также в 2013 г. в Карачаево-Черкесской Республике. Самые высокие коэффициенты очаговости по ящуру регистрировали в Приморском крае, где в 2014 и 2019 гг. ящур был отмечен на нескольких крупных свинофермах.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лозовой Д. А., Рахманов А. М. Эпизоотическая ситуация по ящуру в мире в 2013–2015 гг. и меры борьбы с ним // Ветеринария сегодня. – 2016. – № 1. – С. 38–42.



Рис. 2. Доля неблагополучных по ящуру пунктов в регионах Российской Федерации (2010 – март 2019 г.)

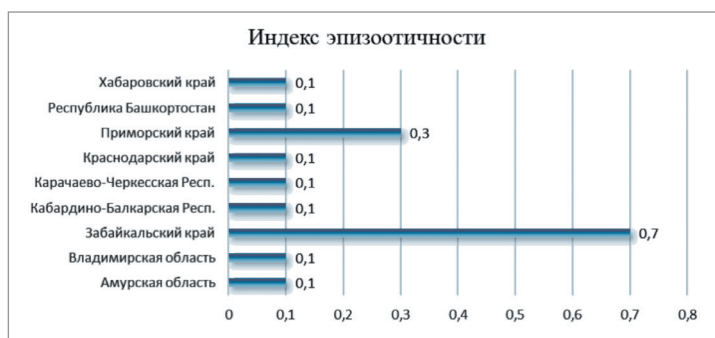


Рис. 3. Индекс эпизоотичности ящура в регионах Российской Федерации

Таблица 3
Коэффициент очаговости по ящуру в регионах Российской Федерации

Регион	Год								
	2010	2011	2012	2013	2014	2016	2017	2018	2019
Амурская область	–	–	–	91,4	–	–	–	–	–
Владимирская область	–	–	–	–	–	90	–	–	–
Забайкальский край	179	184	–	202,3	63,8	157,3	–	162,8	2
Кабардино-Балкарская Республика	–	–	–	23	–	–	–	–	–
Карачаево-Черкесская Республика	–	–	–	65	–	–	–	–	–
Краснодарский край	–	–	–	5,3	–	–	–	–	–
Приморский край	–	–	55,5	–	2479	–	–	–	5372,6
Республика Башкортостан	–	–	–	–	–	–	18,8	–	–
Хабаровский край	–	–	–	–	–	–	–	–	159

2. Общероссийский классификатор территорий муниципальных образований. – URL: http://www.oktmo.ru/analytics_localitybysubjects (дата обращения: 18.04.19).

3. Ошибки при клинической диагностике ящура у крупного рогатого скота / А. В. Мищенко, В. А. Мищенко, Г. А. Джаилиди [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2014. – № 1. – С. 22–23.

4. Рекомендации по методике эпизоотологического исследования / сост.: И. А. Бакулов, Г. Г. Юрков, А. П. Песковацков, В. А. Ведерников. – Покров, 1975. – 73 с.

5. Таршис М. Г., Константинов В. М. Математические методы в эпизоотологии. – М.: Колос, 1975. – 176 с.

6. Эпизоотологический лексикон: учеб. пособие / В. В. Макаров, А. А. Гусев, Е. В. Гусева, О. И. Сухарев. – М.: Колос, 2001. – 176 с.

7. Эпизоотология и инфекционные болезни / А. А. Конопаткин, Б. Т. Артемов, И. А. Бакулов [и др.]; под ред. А. А. Конопаткина. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Колос, 1993. – 687 с.

8. Infection with foot and mouth disease virus // *Terrestrial Animal Health Code / OIE*. – 2018. – Vol. 2, Chap. 8.8. – P. 433–464.

9. World Organization for Animal Health. – URL: <http://www.oie.int/> (дата обращения: 18.04.19).

10. World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease (WRLFMD). – URL: <http://www.wrlfmd.org/ref-lab-reports> (дата обращения: 14.03.19).

REFERENCES

1. Lozovoy D. A., Rakhmanov A. M. Global foot-and-mouth disease epidemic situation in 2013–2015 and FMD control measures [Epizooticheskaya situatsiya po yashchuru v mire v 2013–2015 gg. i mery bor'by s nim]. *Veterinary Science Today*. 2016; 1: 38–42 (in Russian).

2. Russian Classification of Territories of Municipal Formations [Obshcherossiyskiy klassifikator territorij municipal'nyh obrazovaniy]. URL: http://www.oktmo.ru/analytics_localitybysubjects (date of access: April 18, 2019) (in Russian).

3. Errors in clinical diagnosis of foot-and-mouth disease in cattle [Oshibki pri klinicheskoy diagnostike yashchura u krupnogo rogatogo skota]. A. V. Mishchenko, V. A. Mishchenko, G. A. Dzhaileidi [et al.]. *Veterinaria Kubani*. 2014; 1: 22–23 (in Russian).

4. Recommendations on the methods of epizootological studies [Rekomendatsii po metodike epizootologicheskogo issledovaniya]. Content by: I. A. Bakulov, G. G. Yurkov, A. P. Peskovatskov, V. A. Vedernikov. Pskov, 1975 (in Russian).

5. Tarshis M. G., Konstantinov V. M. Mathematical methods in epizootology [Matematicheskie metody v epizootologii]. M.: Kolos, 1975 (in Russian).

6. Epizootological lexicon: a study guide. V. V. Makarov, A. A. Gusev, E. V. Guseva, O. I. Sukharev. – M.: Kolos, 2001 (in Russian).

7. Epizootiology and infectious diseases [Epizootologicheskij leksikon: ucheb. posobie]. A. A. Konopatkin, B. T. Artemov, I. A. Bakulov [et al.]. edited by A. A. Konopatkin. 2nd edition, revised and extended. M.: Kolos, 1993 (in Russian).

8. Infection with foot and mouth disease virus. *Terrestrial Animal Health Code. OIE*. 2018; Vol. 2, Chap. 8.8: 433–464.

9. World Organization for Animal Health. – URL: <http://www.oie.int/> (date of access: 18.04.19).

10. World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease (WRLFMD). URL: <http://www.wrlfmd.org/ref-lab-reports> (date of access: March 14, 2019).

Поступила 27.05.19
 Принята в печать 07.08.19

ОБЗОР эпизоотической ситуации по некоторым инфекционным болезням животных в Российской Федерации в 2018 г.

Н. С. Бардина¹, А. В. Варкентин², А. К. Караулов³

¹ Младший научный сотрудник, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: bardina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-6620-8838

² Заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: varkentin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-9732-1083

³ Руководитель ИАЦ, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: karaulov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5731-5762

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты анализа эпизоотической ситуации по инфекционным болезням животных, подлежащим обязательной нотификации во Всемирную организацию здравоохранения (МЭБ): ящуру, африканской и классической чуме свиней, заразному узелковому дерматиту крупного рогатого скота, оспе овец и коз, высокопатогенному гриппу птиц. В работе представлены сведения по неблагополучию Российской Федерации по перечисленным заболеваниям в разбивке по субъектам, а также дана сравнительная характеристика данных за 2017 и 2018 гг. Кроме того, акцентируется внимание на некоторых особенностях эпизоотического процесса в зависимости от сезона. Российская Федерация продолжительный период времени является неблагополучной по ряду особо опасных инфекционных болезней животных, таких как африканская и классическая чума свиней, ящур, заразный узелковый (нодулярный) дерматит крупного рогатого скота, оспа мелкого рогатого скота, высокопатогенный грипп птиц. Вышеперечисленные инфекции наносят значительный ущерб животноводческой отрасли страны, что также отрицательно сказывается на ее экспортном потенциале. Анализ эпизоотической ситуации по африканской чуме свиней показывает стабильное неблагополучие Российской Федерации с тенденцией географического расширения эпизоотии. Несмотря на то что число вновь выявленных в 2018 г. вспышек африканской чумы свиней почти в два раза меньше по сравнению с 2017 г., ситуация по этому заболеванию остается напряженной. Прогноз по-прежнему неблагоприятный. Заразный узелковый дерматит регистрируют в Российской Федерации уже четыре года. При этом с каждым годом болезнь охватывает все новые территории. Особую озабоченность вызывает эпизоотическая ситуация по высокопатогенному гриппу птиц: в 2018 г. было выявлено 82 вспышки в популяции домашней птицы. Данный показатель в 2,3 раза превысил уровень 2017 г. Кроме того, наметилась тенденция к расширению эпизоотии. Так, в 2018 г. грипп птиц был зафиксирован на территории семи субъектов Российской Федерации, ранее благополучных по данной болезни. Эпизоотическая ситуация по ящуру, оспе мелкого рогатого скота, классической чуме свиней в 2018 г. оставалась стабильно неблагополучной.

Ключевые слова: ящур, африканская чума свиней, классическая чума свиней, заразный узелковый дерматит КРС, оспа, грипп птиц.

UDC 619:616.98:578:616-036.22

OVERVIEW OF THE EPIDEMIC SITUATION ON CERTAIN INFECTIOUS ANIMAL DISEASES IN THE RUSSIAN FEDERATION IN 2018

N. S. Bardina¹, A. V. Varkentin², A. K. Karaulov³

¹ Junior researcher, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: bardina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-6620-8838

² Head of the Sector, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: varkentin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-9732-1083

³ Head of the Information and Analytical Centre, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: karaulov@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5731-5762

SUMMARY

The paper presents the results of analysis of epidemic situation on infectious animal diseases subject to compulsory OIE notification: FMD, African swine fever, classical swine fever, lumpy skin disease, sheep and goat pox, and highly pathogenic avian influenza. The paper presents data on the specified diseases situation in the Russian Federation, broken down by Subjects, and also provides a comparative description of the data for 2017 and 2018. Besides, attention is focused on some features of the epidemic process, depending on the season. For a long time the Russian Federation has been infected with several highly dangerous animal diseases, such as African and classical swine fever, FMD, lumpy skin disease, sheep and goat pox, and highly dangerous avian influenza. The specified above infections cause great damage to animal husbandry in the country which has a negative impact on its export potential. Analysis of the ASF epidemic situation demonstrates that the Russian Federation has been permanently infected and there is a trend for the geographic spread of the epidemic. Despite the fact that the number of ASF outbreaks newly detected in 2018 is almost half that of 2017, the situation remains tense. The forecast is still unfavorable. Lumpy skin disease has been reported in the Russian Federation for four years already. Herewith, from year to year the disease has been invading new territories. The HPAI epidemic situation is of great concern as in 2018 82 outbreaks were reported in poultry population which is 2.3 times more than in 2017. Besides, there is a trend for the epidemic extension. Thus, in 2018 avian influenza was reported in previously disease free Subjects of the Russian Federation. In 2018 the Russian Federation remained permanently infected with FMD, sheep and goat pox, and classical swine fever.

Key words: FMD, African swine fever, classical swine fever, lumpy skin disease, pox, avian influenza.

ВВЕДЕНИЕ

Оперативность и эффективность противоэпизоотической и профилактической деятельности в первую очередь зависит от того, владеют ли ветеринарные специалисты достоверной и полной информацией об эпизоотической ситуации на вверенных и сопредельных с ними территориях. Особенно важно обладать своевременной и актуальной информацией о болезнях, подлежащих обязательной нотификации во Всемирную организацию здравоохранения животных (МЭБ).

Российская Федерация стационарно неблагополучна по ряду особо опасных болезней животных, в том числе ящуру, заразному узелковому дерматиту (ЗУД) КРС, высокопатогенному гриппу птиц, оспе овец и коз, классической и африканской чуме свиней.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы официальные данные МЭБ [3] и ФГБУ «Центр ветеринарии» Министерства сельского хозяйства РФ об эпизоотической ситуации на территории РФ [2]. Обработку информации проводили методом ретроспективного анализа [1]. С целью унификации и сравнения полученных данных использованы следующие показатели: неблагополучие (количество неблагополучных пунктов) и заболеваемость (число заболевших животных).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ящур

В 2018 г. в МЭБ было нотифицировано пять вспышек ящура животных, произошедших на территории РФ. Заболевание выявляли в популяциях крупного и мелкого рогатого скота. Все вспышки были локализованы на территории Борзинского района Забайкальского края (вблизи государственной границы с Республикой Монголией).

В 2017 году было также зарегистрировано пять очагов ящура в одном субъекте РФ – Республике Башкортостан.

Африканская чума свиней

Африканская чума свиней (АЧС) впервые была обнаружена на территории РФ в ноябре 2007 г. (случай заболевания дикого кабана выявлен на территории Чеченской Республики, граничащей с Грузией). С 2007 г. вспышки заболевания регистрируют практически

каждый месяц. Ежегодно РФ нотифицирует в МЭБ (посредством электронной платформы WAHIS) от 53 до 298 очагов АЧС ($n_{\text{среднее}} = 109$). Территориальное расширение эпизоотии достигло практически катастрофических масштабов. За весь период наблюдения (с 2007 по 2018 г.) неблагополучие по АЧС регистрировали на территории 51 субъекта РФ. Причем в большинстве случаев ситуация не ограничивалась спорадическими вспышками. Нередко, после первого выявления инфекции, в регионе продолжали возникать все новые очаги АЧС вплоть до признания зараженной территории эндемичной по данному заболеванию. Зачастую к распространению АЧС на ранее благополучных территориях приводит бесконтрольное содержание свиней, несоблюдение ветеринарно-санитарных правил, а также попытки хозяев скрыть заболевание животных, сопровождающиеся стихийными свалками трупов зараженных свиней в местах свободного доступа дикого кабана (лесополосы, окраины сел и деревень). Подобные случаи становятся причиной распространения АЧС в таких регионах, как, например, Тверская, Тульская, Московская области и другие субъекты Центрального федерального округа. Самые масштабные эпизоотии в России наблюдались в 2011, 2016 и 2017 гг. Так, в 2011 г. АЧС была впервые выявлена в семи ранее благополучных субъектах РФ, в 2016 – в шести, в 2017 – в восьми. Если ранее (вплоть до 2016 г.) для эпизоотии АЧС на территории РФ была более свойственна тенденция к диффузному распространению с небольшим количеством выносов на дальние расстояния, то в 2017 г. новые очаги фиксировали в географически удаленных от эндемичной зоны регионах Сибирского и Уральского федеральных округов: Иркутской, Омской, Челябинской, Тюменской областях, Красноярском крае и Ямало-Ненецком автономном округе. В данных регионах инфекция не получила широкого распространения. Возникновение вспышек в вышеперечисленных субъектах РФ с большой долей вероятности стало следствием хозяйственной деятельности человека, т. е. на первый план в распространении инфекции в это время выходит антропогенный фактор. Довольно показательным с эпизоотической точки зрения стал факт выявления АЧС в 2016 г. в Калининградской области. Ситуация с широким распространением инфекции в дикой фауне пограничных с Россией европейских стран позволяет с высокой степенью вероятности предположить занос АЧС в Калининградскую область мигрирующими кабанами.

Наряду с охватом эпизоотией АЧС все новых территорий следует отметить тенденцию к оздоровлению регионов эндемичной зоны. Так, большинство субъектов Южного и Северо-Кавказского федеральных округов, где в первые годы после заноса ежегодно выявляли значительное количество вспышек АЧС, в 2016–2018 гг. сообщений о новых очагах не поступало или сообщалось только о единичных случаях. В связи с отсутствием программы государственного мониторинга нет четких доказательств действительного благополучия регионов юга РФ. Сохраняется вероятность сокрытия информации о заболевании.

На рисунке 1 представлена динамика неблагополучия РФ по АЧС по годам в трех популяциях животных (совокупной, а также отдельно свиней и кабанов), что позволяет проследить изменение эпизоотической ситуации за весь исследуемый период неблагополучия (2007–2018 гг.).

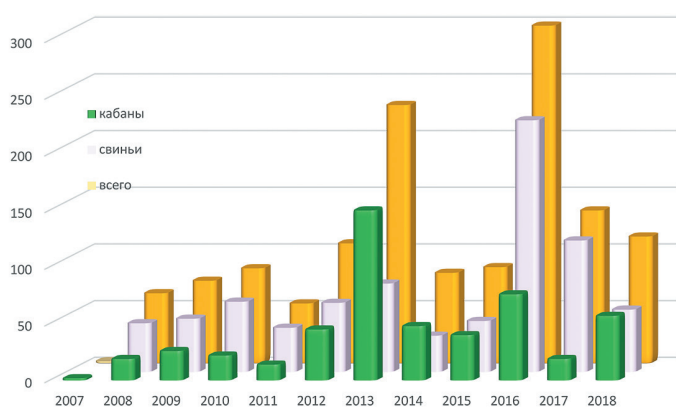


Рис. 1. Годовая динамика неблагополучия по АЧС в трех популяциях: совокупной, свиней, кабанов (2007–2018 гг.)

Таблица 1

Эпизоотическая ситуация по АЧС в РФ в 2018 г.

Субъект РФ	Количество вспышек		Дата регистрации первой вспышки	Дата оздоровления субъекта
	свиньи	кабаны		
Белгородская область	1	8	05.01.2018	15.11.2018
Волгоградская область	2	0	03.01.2018	24.07.2018
Краснодарский край	2	0	05.01.2018	12.02.2018
Калининградская область	22	35	15.01.2018	19.12.2018
Саратовская область	8	0	01.02.2018	23.08.2018
Владимирская область	1	1	26.02.2018	16.08.2018
Ленинградская область	2	6	08.06.2018	19.11.2018
Орловская область	5	0	24.06.2018	13.12.2018
Нижегородская область	2	2	24.06.2018	24.12.2018
Тверская область	2	1	27.06.2018	22.10.2018
Ивановская область	1	0	15.07.2018	03.09.2018
Московская область	3	0	22.07.2018	15.10.2018
Новгородская область	1	0	13.07.2018	23.11.2018
Тульская область	1	0	18.07.2018	12.09.2018
Ростовская область	1	0	27.08.2018	26.10.2018
Псковская область	0	1	28.08.2018	20.09.2018
Липецкая область	1	0	03.09.2018	07.11.2018
Республика Крым	0	3	15.01.2018	11.04.2018

Из рисунка 1 видно, что на начальных этапах развития эпизоотии (2008–2011 гг.) число выявляемых очагов в популяции домашних свиней превалировало над таковым в дикой фауне. В 2012 г. количество вспышек заболевания в популяции дикого кабана заметно возросло и практически достигло уровня неблагополучия среди домашних свиней. Значительно ухудшилась эпизоотическая ситуация по АЧС в 2013 г. за счет увеличения числа случаев заболевания в дикой фауне, когда количество вновь выявленных за год неблагополучных пунктов превысило суммарное их количество за весь предыдущий период наблюдения (2007–2012 гг.). Так, за пять лет с 2007 по 2012 г. было зарегистрировано 128 вспышек АЧС среди диких кабанов, тогда как в 2013 г. их количество составило 150. Общее число очагов АЧС в 2013 г. достигло 228, что в три раза выше среднегодового показателя за предыдущие пять лет ($n = 76$). Следует отметить, что такой очевидный всплеск неблагополучия обусловлен, вероятно, не столько реальным ухудшением ситуации, сколько усилением надзорной деятельности ветеринарных служб. Большинство неблагополучных пунктов в 2013 г. наблюдалось в Смоленской области, где после первых случаев выявления инфекции начался массовый отстрел кабанов с последующим поголовным исследованием их на АЧС. Практически каждый случай выявления больного животного обозначался в отчетах как очаг, что и привело к скачку показателя

неблагополучия, в действительности обусловленного гипердиагностикой. В 2014 г. количество вспышек заболевания в популяции дикого кабана составило 60% от общего неблагополучия, в 2015 г. данный показатель снизился до 47% (вплоть до 2012 г. он не достигал 30%). Число очагов в совокупной популяции в 2014–2015 гг. также не превысило эпидемический порог.

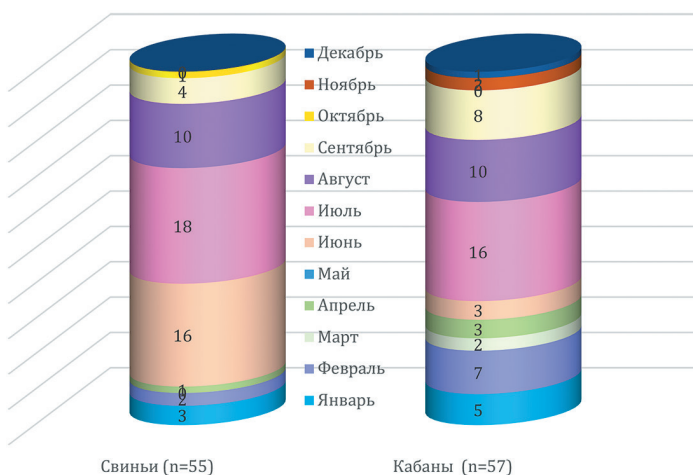


Рис. 2. Количество зарегистрированных в двух популяциях вспышек АЧС в разбивке по месяцам (2018 г.)

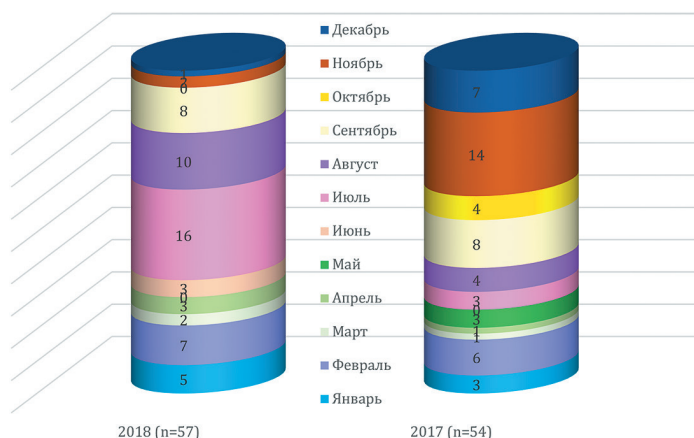


Рис. 3. Количество вспышек АЧС, зарегистрированных в дикой фауне, в разбивке по месяцам (2017–2018 гг.)

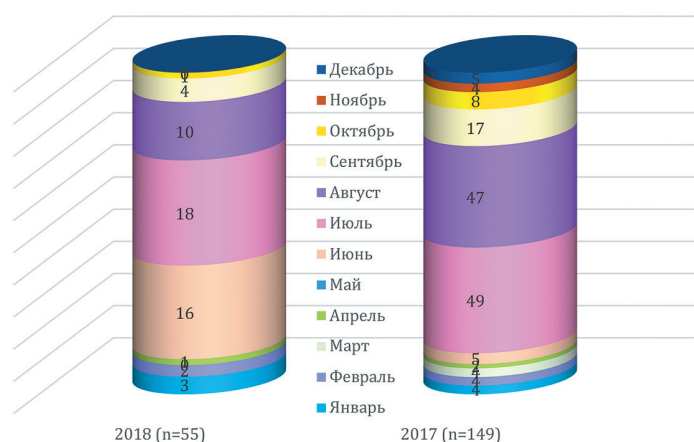


Рис. 4. Количество вспышек АЧС, зарегистрированных в популяции домашних свиней, в разбивке по месяцам (2017–2018 гг.)

В 2016 г. эпизоотическая ситуация по АЧС резко ухудшилась – была выявлена 291 вспышка заболевания, в т. ч. зарегистрировано 76 случаев в популяции диких, 215 – в популяции домашних свиней. Эпидемический порог в совокупной популяции значительно превышен, в основном за счет неблагополучия среди домашних свиней (число вспышек за указанный промежуток времени в три раза превысило средний показатель). В 2017 г. зарегистрировано 203 очага АЧС, 150 из которых – в популяции домашних свиней.

В течение 2018 г. РФ нотифицировала в МЭБ 109 вспышек АЧС: 54 – среди диких и 55 – среди домашних свиней. Неблагополучие регистрировали в 17 субъектах страны (за исключением Республики Крым, об очагах в которой ($n = 3$) в МЭБ не сообщалось). Данные по эпизоотической ситуации по АЧС в разбивке по регионам представлены в таблице 1.

Для сравнения: в 2017 г. в РФ было зарегистрировано 188 очагов АЧС (203 – с учетом вспышек в Республике Крым), что почти в 1,9 раза больше, чем в 2018 г. Кроме того, и географическое распространение АЧС в предыдущем году было гораздо шире. Неблагополучными были 24 региона страны, включая регионы Сибирского и Уральского федеральных округов, где инфекция была зарегистрирована впервые.

Диаграмма на рисунке 2 демонстрирует распределение вспышек АЧС в двух популяциях в разбивке по месяцам.

На рисунке 2 видно, что наиболее неблагополучным по АЧС периодом для домашних свиней стали летние месяцы (июнь–август), когда в сумме было выявлено 44 очага, что составляет 80% от общего годового неблагополучия. Для кабанов выражено смещение на один месяц относительно домашних свиней, т. е. наиболее неблагополучными для этой популяции в 2018 г. стали июль, август, сентябрь. За эти три месяца было зарегистрировано 34 очага АЧС в дикой фауне (59,6% от общего числа выявленных за год). Указанное смещение может свидетельствовать о влиянии эпидпроцесса, развивающегося в популяции домашних свиней, на популяцию кабанов. Появление заболевания в дикой природе связано с незаконными захоронениями или свалками трупов домашних свиней, погибших от АЧС. Периодически такие свалки обнаруживаются в лесополосах, они доступны для дикого кабана, это становится причиной его заражения. Смещение всплеска эпизоотии на один месяц легко объяснить таким образом – весь процесс, т. е. незаконное захоронение, поедание трупов зараженных свиней дикими кабанами, инфицирование и инкубационный период (10–14 сут), укладывается в указанный промежуток времени.

Значительное количество вспышек – 12 (21% от годового показателя неблагополучия) – приходилось на январь и февраль. Это соответствует биологическим особенностям дикого кабана и приурочено к периоду гона.

Количество случаев неблагополучия в популяции диких свиней в 2018 г. по сравнению с 2017 г. представлено на рисунке 3.

Как видно из гистограммы (рис. 3), в 2017 г. значительное число вспышек регистрировалось в ноябре и декабре (14 и 7 соответственно). Это легко объясняется биологическими и поведенческими особенностями кабанов. В 2018 г. большая часть очагов выявлена в июле–августе, 16 и 10 случаев (пики заболевания в данный период соответствуют эпизоотии в популяции домашних свиней), что свидетельствует о ведущей роли антропогенного фактора в распространении АЧС на территории РФ.

На рисунке 4 представлена гистограмма, визуализирующая неблагополучие в популяции домашних свиней в разбивке по месяцам в 2017 и 2018 гг.

Как уже было сказано ранее, в 2018 г. в РФ было зарегистрировано 55 вспышек АЧС в популяции домашних свиней. Данный показатель в 2,7 раза меньше, чем в предыдущем 2017 г., когда в стране было зарегистрировано 149 очагов. Территориально границы эпизоотии в 2018 г. также не расширились: АЧС выявляли только в ранее неблагополучных регионах, в отличие от 2017 г., когда инфекция была вынесена далеко за пределы эндемичной зоны, локализовавшейся ранее в пределах европейской части РФ. В 2018 г. наиболее неблагополучным по АЧС регионом стала Калининградская область, куда инфекция впервые была занесена в ноябре 2017 г. Так, в течение 2018 г. в регионе зарегистрировано 57 вспышек (в т. ч. 35 – среди диких, 22 – среди домашних свиней), т. е. более половины от всех выявленных на территории РФ за 2018 г.

Таким образом, эпизоотическая ситуация по АЧС в 2018 г. оставалась напряженной, несмотря на тот

факт, что число вспышек и неблагополучных регионов по сравнению с предыдущим годом значительно сократилось.

Заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота

Заболевание впервые выявлено в РФ в июле 2015 г., когда было зарегистрировано 17 очагов заразного узелкового дерматита (ЗУД) КРС в трех субъектах Северо-Кавказского федерального округа. В 2016 г. болезнь получила беспрецедентно широкое распространение – в МЭБ было нотифицировано 313 вспышек. Значительно возросло (по сравнению с предыдущим годом) не только число вспышек, но и количество неблагополучных регионов. Так, неблагополучие регистрировалось в 17 регионах Южного, Северо-Кавказского, Центрального и Приволжского федеральных округов. Для эпизоотии характерна ярко выраженная сезонность. Вспышки выявляют ежегодно, преимущественно в летний период (рис. 5).

В 2018 г. было выявлено 64 вспышки ЗУД КРС, что в полтора раза больше, чем в 2017 г. Неблагополучие регистрировали в шести регионах РФ. Данные о территориальном распространении заболевания представлены в таблице 2.

В 2017 г. было зарегистрировано 44 вспышки ЗУД КРС в 6 регионах РФ, более половины из которых (24 случая) – в Саратовской области. В 2018 г. сохранялась тенденция к продвижению инфекции в глубь страны с захватом новых территорий Приволжского и Уральского федеральных округов. При этом в первично неблагополучных регионах Северо-Кавказского и Южного федеральных округов заболевание в последние годы практически не регистрируется. В данной ситуации не исключена вероятность сокрытия владельцами животных информации о заболевании. В 2018 г. ЗУД КРС впервые выявили в Курганской, Челябинской, Свердловской и Омской областях.

Высокопатогенный грипп птиц (H5N8, H5N2)

В 2018 г. РФ нотифицировала в МЭБ 82 вспышки высокопатогенного гриппа в популяции домашней птицы, в т. ч. одну, вызванную вирусом типа H5N2, и 81 – вирусом типа H5N8. Следует отметить, что высокопатогенный грипп птиц H5N2 впервые зарегистрирован в РФ в декабре 2017 г. До этого вспышки болезни у домашней птицы вызывал вирус H5N8 (2016–2017 гг.) и вирус H5N1 (2005–2008, 2014 гг.). Последние случаи гриппа птиц подтипа H5N1 в популяции дикой птицы выявляли в 2015 г. в четырех субъектах РФ: Республике Тыва, Забайкальском крае, Астраханской и Новосибирской областях.

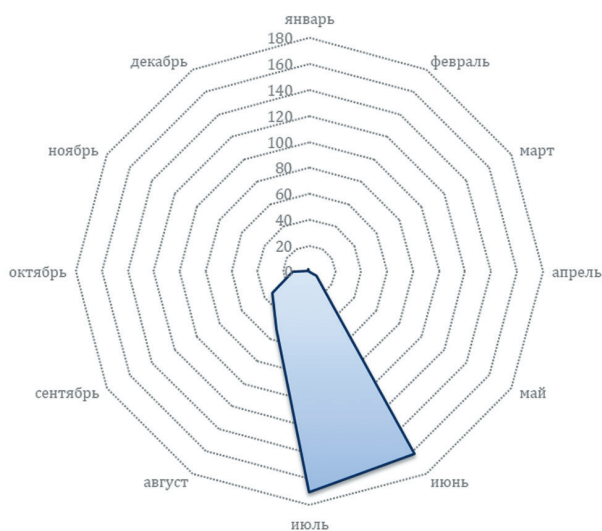


Рис. 5. Сезонность неблагополучия по ЗУД КРС в РФ (2015–2018 гг.)

Неблагополучие в популяции домашней птицы в 2018 г. регистрировали в 15 регионах преимущественно Приволжского и Центрального федеральных округов. При этом впервые заболевание было выявлено в семи из них: Пензенской, Ульяновской, Саратовской, Орловской, Смоленской, Курской областях и Чувашской Республике (табл. 3). Во всех очагах заболело 852 275 голов домашней птицы, из них 852 128 пало. В рамках проведения противоэпизоотических мероприятий уничтожено в общей сложности 1 955 345 голов. Примечательно, что ни о фактах заболевания и массовой гибели дикой и синантропной птицы, ни о фактах обнаружения у них вируса высокопатогенного гриппа птиц в 2018 г. не сообщалось.

В 2017 г. на территории РФ было выявлено 35 вспышек гриппа в 12 субъектах страны, в т. ч. 4 – в популяции дикой, из них одна в зоопарке, и 31 – домашней птицы. Показатель неблагополучия в 2018 г. (82 вспышки) превышал уровень предыдущего года в 2,3 раза, однако число очагов на крупных птицефабриках оставалось прежним – 8.

Основным подтипом вируса гриппа птиц, вызвавшим вспышки заболевания, является вирус типа A H5N8, и только в Костромской области заболевание было обусловлено вирусом H5N2, хотя по гену гемагглютинаина H5 оба вируса относятся к одной генетической евроазиатской линии 2.3.4.4в. Впервые реассортантный вирус H5N8 данной клады был обнаружен в мае 2016 г. у диких птиц на озере Убсу-Нур в Республике Тыва.

Таблица 2

Эпизоотическая ситуация по ЗУД КРС в РФ в 2018 г.

Регион	Число вспышек	Дата регистрации первой вспышки	Дата оздоровления субъекта
Самарская область	32	29.06.2018	04.03.2019
Курганская область	21	05.07.2018	10.09.2018
Челябинская область	4	08.07.2018	14.11.2018
Саратовская область	1	30.08.2018	15.10.2018
Свердловская область	1	04.09.2018	12.11.2018
Омская область	5	24.09.2018	09.11.2018

Таблица 3

Эпизоотическая ситуация по высокопатогенному гриппу птиц в РФ в 2018 г.

Регион	Число вспышек	Дата регистрации первой вспышки	Дата оздоровления субъекта
Курская область	6	07.06.2018	03.08.2018
Самарская область	13	08.06.2018	24.08.2018
Пензенская область	9	17.06.2018	14.09.2018
Саратовская область	4	18.06.2018	17.08.2018
Орловская область	7	20.06.2018	24.09.2018
Смоленская область	2	28.06.2018	29.08.2018
Ростовская область	4	03.07.2018	11.02.2019
Республика Татарстан	16	05.07.2018	20.08.2018
Нижегородская область	3	06.07.2018	07.09.2018
Чувашская Республика	10	06.07.2018	24.08.2018
Ульяновская область	1	20.07.2018	15.08.2018
Удмуртская Республика	4	27.07.2018	27.08.2018
Республика Марий Эл	1	30.07.2018	12.09.2018
Костромская область	1	09.08.2018	12.11.2018
Воронежская область	1	31.10.2018	11.02.2019

Особую тревогу вызывает тот факт, что в 2018 г. гриппом птиц были поражены птицеводческие предприятия с высоким уровнем ветеринарно-санитарной защиты и зонированным размещением производства (в Ростовской и Пензенской областях). После выявления вируса гриппа были карантинированы восемь птицефабрик.

Оспа овец и коз

В 2018 г. в РФ выявлено 12 вспышек оспы овец, в т. ч. по одной в Республике Калмыкии и Амурской области, 8 – в Московской, 2 – в Тульской областях. Во всех регионах случаи заболевания регистрировали только у овец.

В 2017 г. оспу МРС на территории РФ не выявляли.

Классическая чума свиней

В 2018 г. Российская Федерация notificировала в МЭБ четыре вспышки классической чумы свиней (КЧС), в т. ч. одну – в популяции домашних свиней Московской области, три случая заболевания – в дикой фауне Приморского края. На конец года все очаги были ликвидированы.

В 2017 г. выявлено два очага КЧС на территории Приморского края – по одному в популяции домашних свиней и дикого кабана.

ВЫВОДЫ

Проведенный анализ статистических данных позволил выявить тенденцию к ухудшению эпизоотической ситуации в РФ практически по всем оцениваемым заболеваниям, за исключением африканской чумы свиней, по которой наблюдается стойкое эпизоотическое неблагополучие:

- КЧС – возник новый эндемичный регион – Приморский край, в котором заболевание регистрируется подряд более трех лет, в т. ч. в дикой фауне.
- Оспа овец и коз – наблюдается географический размах эпизоотии с охватом территории от Центрального (Московская, Тульская области) до Дальневосточного (Амурская область) федеральных округов.

• Высокопатогенный грипп птиц – эпизоотия получила широкое распространение: 82 вспышки в 15 субъектах Центрального, Южного и Приволжского федеральных округов. Особую настороженность вызывает проникновение инфекции на крупные птицеводческие предприятия (8 очагов в 2018 г.).

• Заразный узелковый дерматит – распространение эпизоотии со смещением ареала на восток. Об эпизоотической ситуации в первично неблагополучных субъектах Южного и Северо-Кавказского федеральных округов нет достоверной информации.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Методические указания по ретроспективному анализу эпизоотической ситуации (на примере отчетов об эпизоотической ситуации в Российской Федерации за год/полугодие/квартал) / 29-11; ФГБУ «ВНИИЗЖ». – 2014. – 43 с.
2. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации (2018 год). – URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2018/iac2018.pdf>.
3. World Animal Health Information Database (WAHIS) Interface. – URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home.

REFERENCES

1. Methodical guideline for retrospective analysis of the epidemic situation (illustrated through reports on the epidemic situation in the Russian Federation for a year/half of the year/quarter) [Metodicheskie ukazaniya po retrospektivnomu analizu epizooticheskoy situatsii (na primere otchetov ob epizooticheskoy situatsii v Rossijskoj Federacii za god/polugodie/kvartal)]. 29-11; FGBI "ARRIAH" Vladimir, 2011 (in Russian).
2. Epidemic situation in the Russian Federation (2018) [Epizooticheskaya situatsiya v Rossijskoj Federacii (2018 god)]. URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2018/iac2018.pdf> (in Russian).
3. World Animal Health Information Database (WAHIS) Interface. URL: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Wahidhome/Home.

Поступила 06.08.19

Принята в печать 23.08.19

О РАСПРОСТРАНЕНИИ ВИРУСА НИЗКОПАТОГЕННОГО ГРИППА А/Н9Н2 В МИРЕ И НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ. ПРОБЛЕМЫ ИСКОРЕНЕНИЯ БОЛЕЗНИ

М. С. Волков¹, А. В. Варкентин², В. Н. Ирза³

¹ Заведующий лабораторией, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: volkov_ms@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-8819-0720

² Заведующий сектором, кандидат ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: varkentin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-9732-1083

³ Главный научный сотрудник, доктор ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: irza@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7489-1772

РЕЗЮМЕ

В статье представлены эпизоотологические данные по распространению низкопатогенного гриппа птиц подтипа Н9 среди домашних птиц в мире и на территории Российской Федерации. Ввиду отсутствия обязательной нотификации о случаях возникновения данного заболевания в МЭБ для анализа широты распространения инфекции использованы данные из научных источников. Описаны случаи клинически выраженного заболевания при ассоциированном течении низкопатогенного гриппа в популяции птиц сельскохозяйственного назначения. Освещены проблемные вопросы искоренения инфекции. Глобализация распространения вируса А/Н9 среди домашних птиц, его быстрая эволюция и зоонозный потенциал требуют пристального внимания к данной проблеме. Поскольку признаки и течение болезни схожи с другими инфекционными заболеваниями птиц (ньюкаслская болезнь, инфекционный ларинготрахеит, инфекционный бронхит кур, метапневмовирусная инфекция, микоплазмоз, гемофилез и др.), в рутинную лабораторную практику при уточнении диагноза необходимо включить исследования на низкопатогенный грипп птиц, что позволит оперативно реагировать на угрозу. Циркуляция вируса Н9 отражается не только на клиническом состоянии птицы и ее продуктивности, но также влияет и на эффективность плановых иммунизаций живыми вакцинами, ослабляя их протективное действие и увеличивая степень поствакцинальных реакций. Несмотря на возможность специфической профилактики заболевания, мнения ученых разделились на за и против. С одной стороны, вакцинация предотвращает экономический ущерб и экскрецию вируса во внешнюю среду, с другой стороны, может способствовать «тихому» распространению вируса и его ускоренной изменчивости, что характерно при низкой напряженности популяционного иммунитета.

Ключевые слова: низкопатогенный грипп птиц (НГП), птицеводство, респираторный синдром, ассоциированное течение, Н9Н2.

UDC 619:616.98:578.832.1:616-076

SPREAD OF LOW PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA A/H9N2 IN THE WORLD AND RUSSIAN FEDERATION. CHALLENGES OF DISEASE ERADICATION

M. S. Volkov¹, A. V. Varkentin², V. N. Irza³

¹ Head of Laboratory, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: volkov_ms@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-8819-0720

² Head of Sector, Candidate of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: varkentin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-9732-1083

³ Chief Researcher, Doctor of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: irza@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7489-1772

SUMMARY

The paper demonstrates data on global and national spread of subtype H9 low pathogenic avian influenza in poultry. Due to no need of the mandatory disease notification to the OIE, published data are used for the analysis of the infection spread. Cases of combined low pathogenic avian influenza clinical manifestation in poultry population are described. Challenges of the infection eradication are addressed. Global spread of A/H9 virus in poultry, its rapid evolution and zoonotic potential require close attention. Since the disease signs and clinical course are similar to the ones of other avian infectious diseases (Newcastle disease, infectious laryngotracheitis, infectious bronchitis, metapneumovirus infection, mycoplasmosis, infectious coryza, etc.), the routine laboratory diagnosis should include tests for low pathogenic avian influenza thus facilitating the rapid response to the threat. H9 virus circulation is reflected not only in the physical condition of birds and their productivity, but it also affects the live vaccines' efficacy during scheduled immunizations through the reduction of their protective effect and increase of post-vaccination reactions. In spite of the availability of specific prevention, the opinions of the researchers divided between its opponents and proponents. On the one hand, the vaccination eliminates the economic losses and the virus escape into the environment, but on the other hand, it can aid to "silent" spread of the virus and its established variation that is typical in case of low strength of the poultry population immunity.

Key words: low pathogenic avian influenza (LPAI), poultry industry, respiratory syndrome, combined disease, H9N2.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то что вирус H9N2 относится к категории низкопатогенного гриппа птиц (НГП), он создает постоянную угрозу для промышленного птицеводства за счет его широкого распространения. Кроме того, патоген обладает зоонозным потенциалом и выделяется из ротоглоточной слизи человека, а у сотрудников птицефабрик, работающих с инфицированным стадом, выявляют специфические антитела к вирусу А/Н9. Низкопатогенный грипп, обусловленный вирусом H9N2, не подлежит обязательной нотификации во Всемирную организацию здравоохранения животных (МЭБ), поэтому информация о его распространении представлена исключительно в научных публикациях. Данный вирус, несмотря на его низкую вирулентность, является причиной развития клинически выраженной болезни на фоне коинфицирования и применения живых вакцин, вызывает серьезные экономические потери, связанные с повышенной выбраковкой, летальностью и снижением продуктивности как у мясных гибридов птиц, так и у кур-несушек, особенно в условиях промышленного производства. Считается экономически необоснованным применение радикальных мер при выявлении НГП подтипа H9N2, при этом вакцинация может быть эффективным инструментом в контроле данного заболевания. Многие страны (Пакистан, Иран, Израиль, Корея, КНР и др.) используют стратегию профилактической иммунизации против гриппа H9 с целью уменьшения экономических рисков рентабельного ведения отрасли и борьбы с инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали общепринятые методы эпизоотологического исследования. Полученные в ходе исследования данные систематизировали и подвергали эпизоотологическому анализу. Вскрытие трупов, отбор проб и транспортировку патологических материалов проводили в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)»; СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности»; Ветеринарными правилами лабораторной диагностики гриппа А птиц, утвержденными приказом Минсельхоза России от 03.04.2006 г. № 105 [1, 4, 5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

О распространении вируса в мире

Вирус подтипа H9N2 имеет широкое распространение во всем мире, его принято разделять на две основные генетические группы – североамериканского и евразийского происхождения. Впервые вирус с антигенной формулой H9N2 был выделен от диких птиц и индеек в 1966 г. в США [20].

Особое распространение вирус H9 получил в странах Азии, особенно в Китае, где широко представлены две генетических линии: Y280 (клада h 9.4.2) и с 2013 г. – G1 (h 9.4.1). До 2013 г. преобладающим генотипом вируса были линии BJ94-подобный H9N2 и SF98-подобный H9N2. При этом вирус линии G1 чаще выявляли от перепелов, а BJ94-подобный (генотип А) и F/98-подобные (Н) генотипы – от кур. После 2000 г. генотип Н заменил генотип А и стал доминирующим в Восточном Китае [14].

Китай считается эпицентром распространения вирусов гриппа. В этой стране вирус H9N2 был выделен от кур, уток, перепелов, фазанов, куропаток, голубей,

шелковистой курицы, азиатской каменной куропатки и стал самым распространенным подтипом вируса гриппа среди домашней птицы. Согласно статистическим данным, в период с 1996 по 2000 г. доля поголовья кур, подвергшихся заражению подтипом H9N2, составляла 93,89%, что свидетельствует о глобальном распространении этого вируса. Кроме того, данный вирус является донором внутренних генов для образования реассортантов [13].

Грипп H9N2 считается эндемичным на Ближнем Востоке и в Северной Африке с 1990 г. [26]. Массовые вспышки гриппа H9 зарегистрированы в Ираке в 2004–2007 гг. с 70%-й летальностью бройлеров и 10%-й летальностью кур-несушек [23]. В период с 2000 по 2003 г. в ОАЭ вирус низкопатогенного гриппа H9 вызывал заболевание у перепелов с 30%-м снижением яйценоскости и 36%-й летальностью у кур-несушек [12]. В Израиле инфекцию часто выявляли в стадах индеек, среди которых летальность варьировала от 0 до 30% [15]. Летальность бройлеров в Ливане в 2004–2005 гг. от гриппа H9 достигала 35%, а у кур-несушек данный показатель не превышал 2%. У свиней, которых кормили отходами птицеводства, в сыворотке крови выявляли специфические иммуноглобулины к антигену H9 [10]. В 2016 г. в Марокко отмечена инфекция гриппа H9 среди кур-несушек с уровнем летальности от 2 до 15% и снижением яичной продуктивности до 80% без последующего ее восстановления в течение 10 недель [18]. Вирус, который вызывал серьезные проблемы среди поголовья птиц в Буркина-Фасо (2017 г.) и Гане (2018 г.), был отнесен к линии G1 [9]. Первый случай выявления вируса низкопатогенного гриппа H9 в Корее произошел в 1996 г. Вирусы НГП H9, вызывающие болезнь в этой стране, принадлежат к обособленной Korean-like линии. На фермах Кореи летальность, вызванная гриппом птиц, составляла от 5 до 30% поголовья [24].

Таким образом, анализ научных источников свидетельствует о масштабном распространении вируса НГП подтипа H9, особенно в странах Азии и Ближнего Востока, при этом выделяют генетические группы G1, Y280 и Y439. Из-за отсутствия объективной информации о гриппе H9 в МЭБ, ввиду необязательности уведомления о заболевании, можно предположить, что ареал распространения патогена еще шире.

О распространении вируса на территории России

В феврале 2012 г. в одном из крупных птицеводческих хозяйств Дальневосточного региона России наблюдалась вспышка респираторной болезни с повышенным отходом. Анализ эпизоотологических данных и результатов лабораторных исследований позволил сделать вывод об ассоциированном течении низкопатогенного гриппа подтипа H9N2, который относился к BJ94-подобному генотипу, широко распространенному в материковом Китае. Впоследствии, при проведении активного мониторинга, был выявлен аналогичный вирус и от голубей. Клиническое течение заболевания у промышленных птиц тяжелого кросса проявлялось респираторным синдромом (хрипы, тяжелое дыхание с открытым клювом, скудность) с повышенным отходом (рис. 1, 2).

При вскрытии основные патологоанатомические изменения локализовались в верхних отделах дыхательной системы (ларингит, трахеит, наличие казеозоподобных пробок в нижней части трахеи, рис. 3, 4).



Рис. 1. Затрудненное дыхание с открытым клювом



Рис. 2. Скуденность цыплят-бройлеров

При изучении биологических свойств вируса установлена его низкая вирулентность. В 2012 г. из биологического материала от диких птиц Центральной части России, Сибири и Дальнего Востока также выявляли геном вируса H9. С 2012 по 2017 г. периодически выявляли антитела к антигену H9 от диких птиц, отстрелянных на озере Убсу-Нур (Республика Тыва, граница с Монголией), преимущественно от птиц отряда ржанкообразные (*Charadriiformes*) – крачки, чайки. В 2017 г. при серологическом исследовании птиц Кировской области в сыворотках крови от тетерева (*Lyrurus tetrix*) и кряквы (*Anas platyrhynchos*) выявлены специфические антигемагглютинины в титрах от 4 до 7 log₂, что указывает на циркуляцию патогена среди птиц естественных экосистем. Весной 2017 г. патоген H9N2 был обнаружен у подсадных уток в одном из охотничьих хозяйств Тульской области. В 2018 г. в результате проведения активного мониторинга со стороны Роспотребнадзора вирус H9N2 был изолирован от диких перелетных птиц в Томской области и Хабаровском крае. В 2019 г. вирус НГП A/H9 был выявлен у кур на Урале, он был отнесен к линии G1, характерной для стран Ближнего Востока. Хочется отметить, что на территории России установлена циркуляция вируса H9 всех трех генетических линий (G1, Y280, Y439).

Почему вирус A/H9N2 с низкой патогенностью в промышленном птицеводстве вызывает серьезные проблемы для популяционного здоровья, повышенную летальность и выбраковку? Действительно,

в экспериментальных лабораторных условиях при заражении опытных групп птиц, выведенных из SPF-эмбрионов, или птиц, не подвергавшихся иммунизации живыми вакцинами, не наблюдается серьезных изменений в клиническом состоянии. Однако в условиях птицефабрики, при скученном содержании, действии стресс-факторов, наблюдается влияние нескольких инфекций сразу. Коинфицирование является пусковым механизмом для увеличения патогенного действия вируса гриппа H9 на организм птицы. Применение живых вакцин против респираторных инфекций на фоне заражения стада НГП провоцирует развитие клинических симптомов и впоследствии увеличение летальности, т. к. патогенное действие нескольких вирусов с одинаковыми механизмами их репликации (одни и те же входные ворота, органы-мишени, клеточные рецепторы) может увеличиваться в разы. Результаты научных исследований зарубежных авторов подтверждают данную гипотезу [7]. Так, N. Arafat с соавт. показали, что применение живой аттенуированной вакцины против инфекционного ларинготрахеита (ИЛТ) резко усугубляет течение низкопатогенного гриппа, обусловленного подтипом H9. В опытной группе цыплят, зараженной вирусом H9 и иммунизированной живой аттенуированной вакциной против ИЛТ, наблюдается атрофия бursы и тимуса. Вследствие этого наблюдается иммуносупрессия, которая является причиной развития вторичных инфекций, повышенной летальности и неэффективности вакцинации против ИЛТ. При этом вирус H9 не оказывал



Рис. 3. Трахеит (гиперемия и набухание слизистой трахеи с вязким секретом)

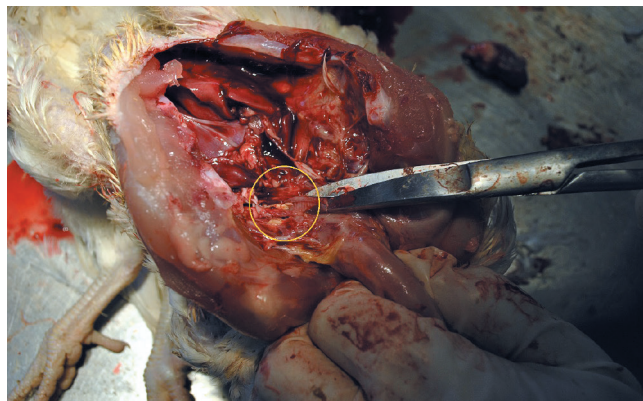


Рис. 4. Казеозоподобная пробка в нижней части трахеи



Рис. 5. Депигментированные яйца, загрязненные жидким пометом зеленого цвета



Рис. 6. Точечные кровоизлияния в ротовой полости

влияния на эффективность вакцинации против инфекционного бронхита кур (ИБК): вакцинация против ИБК зараженных вирусом H9 цыплят не приводила к серьезным последствиям. Таким образом, исследования показывают, что инфицирование цыплят вирусом НГП А/Н9N2 на фоне применения живых вакцин, в частности против ИЛТ, приводит к клиническому проявлению респираторного синдрома, увеличению летальности и выбраковке птиц. Кроме того, у зараженных вирусом гриппа H9 цыплят наблюдается как клеточная, так и гуморальная иммуносупрессия [16]. В одном из хозяйств Приморского края также наблюдалась картина ассоциированного течения гриппа H9 на фоне применения живой вакцины против ИЛТ. При клиническом осмотре птиц наблюдали депрессию, опухание подглазничных синусов, диарею с выделением водянистого помета зеленого цвета, в ротовой полости отмечали точечные кровоизлияния (рис. 5, 6).

При вскрытии птиц регистрировали ларинготрахеиты и отек легких (рис. 7).

Повышенный отход птицы, особенно бройлеров, наблюдается при ассоциированном течении низкопатогенного гриппа H9 с респираторным микоплазмозом (*Mycoplasma gallisepticum*), инфекционным синовитом (*Mycoplasma synoviae*), орнитобактериозом

кур (*Ornithobacterium rhinotracheale*), инфекционным ларинготрахеитом (*Herpesviridae*), инфекционной бурсальной болезнью (*Birnaviridae*), ньюкаслской болезнью (*Paramyxoviridae*).

Эволюция вируса и его зоонозный потенциал

Вирус низкопатогенного гриппа H9N2 обладает потенциалом передачи от животных к человеку и наоборот. Для понимания эволюции низкопатогенного гриппа H9 выделяют 4 основных клады от h 9.1. до h 9.4. На сегодняшний день генетическая клада h 9.4. является самой обширной. Ежегодный генетический анализ показал, что вирус H9 претерпевает быструю эволюцию за счет процессов реассортации, и сегодня известно уже о более 70 генотипах вируса. Кроме того, установлено, что вирус высокопатогенного гриппа H5N1, которым были инфицированы люди в Гонконге (1997 г.), содержал внутренние гены от вируса G1-подобного H9N2 [17, 25]. Происходит реассортация полевого и вакцинного вирусов, что подтверждают генетические исследования [6].

Широко распространенный в Пакистане вирус H9N2 содержал в себе гены (PB2, PB1, PA, NS), идентичные высокопатогенному вирусу гриппа H7N3. M. Iqbal с соавт. в своих исследованиях установили, что при заражении перепелов заболевание протекает тяжелее, чем у других видов птиц. При этом вороны оказались резистентными к проявлению клинически выраженного заболевания при заражении H9. Была доказана межвидовая передача вируса от синантропных птиц курам и наоборот, что говорит о возможностях широкого распространения вируса в природе [21, 22].

Многие млекопитающие восприимчивы к заражению вирусом гриппа H9N2, болезнь легко воспроизводится на хорьках и норках. Серологический анализ, проведенный на фермах по разведению норок в Китае, показал, что в сыворотках крови животных, которым ежедневно скармливают продукты убоя птиц, более чем в 40% случаев выявляют антитела к вирусу H9N2. Вирус выделяли от собак, свиней, лошадей и человека [11, 13]. У 17% сотрудников птицефабрик Ирана, где регистрировался грипп H9N2, в сыворотках крови обнаруживали специфические антитела к данному подтипу [8, 27]. В экспериментах было показано, что вирус в большей концентрации реплицируется в органах дыхательной системы, нежели в кишечном тракте [19].

Начиная с 1999 г. регистрировались случаи заражения человека вирусом H9N2 в Китае, Бангладеш, Египте без развития тяжелых состояний. Вирус H9N2 имеет сродство к рецепторам человека. Однако подтвержденных случаев передачи вируса от человека к человеку до сих пор не представлено.

Искоренение болезни – проблемные вопросы

Основным документом, регламентирующим порядок действий при установлении факта циркуляции вируса гриппа птиц на территории Российской Федерации, являются «Правила по борьбе с гриппом птиц» (2006 г.). Подозрение на инфицирование поголовья птиц вирусом гриппа подтипа H9 при отсутствии каких-либо клинических признаков болезни, в соответствии с п. 16 Правил, требует повторного проведения исследований.

Согласно п. 33.2., «при подтверждении факта инфицирования поголовья птиц товарных птицеводческих

организаций низкопатогенными вирусами подтипов H4, H6 и H9 запрещается реализация птиц в живом виде, инкубационного яйца. Под контролем государственного ветеринарного инспектора по закрепленной территории обслуживания мясо птицы может быть вывезено из угрожаемой зоны для промышленной переработки с использованием технологических режимов, обеспечивающих инактивацию вируса. В организациях разрабатывается и реализуется программа искоренения инфекции, в ходе которой инфицированное поголовье подлежит убою. Проведение убоя птицы допустимо после окончания технологического цикла выращивания птицы» [3].

Программа искоренения инфекции может включать специфическую иммунопрофилактику по согласованию с органами государственной ветеринарной службы, однако вакцинация не является основным инструментом в профилактике заболевания и не должна носить массовый характер.

Естественно, в тех странах, где заболевание наносит серьезный экономический ущерб птицеводству, что обуславливает негативные социальные последствия с угрозой продовольственной безопасности, применяется плановая поголовная вакцинация птиц сельскохозяйственного назначения. Наиболее безопасными и эффективными оказались цельновирионные инактивированные вакцины. Клинически испытаны рекомбинантные и векторные вакцины, но их применение ограничено. Лидером в профилактике НГП А/Н9 является Китай, где с 1998 г. было иммунизировано более 11 млрд кур. Гуморальные поствакцинальные антитела защищают птицу от клинической инфекции и уменьшают/предотвращают экскрецию вируса. Однако недостаточная напряженность и однородность иммунитета в стаде не исключает циркуляции вируса на вакцинированном поголовье, что на фоне антигенозного «прессинга» может явиться предпосылкой для его изменчивости. Программа вакцинопрофилактики должна сопровождаться не только контролем ее эффективности, но и постоянным мониторингом циркуляции вируса на иммунизированном поголовье. Следует учесть, что вакцинация против гриппа влияет на изменение зоосанитарного статуса региона (в порядке регионализации), что может отразиться на экспортном потенциале субъекта.

На сегодняшний день основной стратегией профилактики заноса вируса НГП/Н9 на предприятиях закрытого типа остается неукоснительное соблюдение мер биологической защиты и ветеринарно-санитарного режима [2].

ВЫВОДЫ

1. Вирус низкопатогенного гриппа птиц А/Н9N2 имеет широкое распространение в мире и циркулирует на территории Российской Федерации.
2. Ассоциированное течение болезни может приводить к летальности до 60% поголовья, особенно среди птиц тяжелых кроссов. Применение живых вакцин в инфицированном стаде приводит к иммуносупрессии на клеточном и гуморальном уровне.
3. Быстрая эволюция вируса (реассортация) и его зоонозный потенциал требуют пристального внимания к распространению вируса Н9 в популяциях диких и домашних птиц.
4. Программы оздоровления и искоренения инфекции могут включать стратегию иммунопрофилактики



Рис. 7. Ларинготрахеиты, отек и полнокровие легких

с использованием инактивированных вакцин, однако вакцинация не должна носить масштабного характера, а меры биологической защиты промышленных предприятий должны быть превалирующим элементом в системе профилактики заболевания.

5. Низкая эффективность вакцинации (низкий уровень популяционного иммунитета) может способствовать «тихому» распространению инфекции и изменчивости вируса.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ветеринарные правила лабораторной диагностики гриппа А птиц: утв. приказом Минсельхоза РФ от 03.04.2006 г. № 105. – URL: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/flu/laws/prikaz-105.pdf>.
2. Ветеринарные правила содержания птиц на птицеводческих предприятиях закрытого типа (птицефабриках): утв. приказом Минсельхоза РФ от 03.04.2006 г. № 104. – М., 2006. – 5 с.
3. Правила по борьбе с гриппом птиц: утв. приказом Минсельхоза РФ от 27.04.2006 г. № 90. – М., 2006. – 9 с.
4. СП 1.2.036-95. Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности: утв. 28.08.1995 г. № 14. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/901799960>.
5. СП 1.3.3118-13. Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности): утв. 28.11.2013 г. № 64. – URL: <http://docs.cntd.ru/document/499061798>.
6. Antigenic evolution of H9N2 chicken influenza viruses isolated in China during 2009–2013 and selection of a candidate vaccine strain with broad cross-reactivity / Y. Wei, G. Xu, G. Zhang [et al.] // Vet. Microbiol. – 2016. – Vol. 182. – P. 1–7; DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.10.031.
7. Assessment of national strategies for control of high-pathogenicity avian influenza and low-pathogenicity notifiable avian influenza in poultry, with emphasis on vaccines and vaccination / D. E. Swayne, G. Pavade, K. Hamilton [et al.] // Rev. Sci. Tech. OIE. – 2011. – Vol. 30 (3). – P. 839–870.
8. Avian Influenza (H9N2) among poultry workers in Iran / E. Alizadeh, M. T. Kheiri, V. Mazaheri [et al.] // Iran. J. Microbiol. – 2009. – Vol. 1 (3). – P. 3–6.
9. Avian influenza H9N2 subtype in Ghana: virus characterization and evidence of co-infection / J. A. Awuni, A. Bianco, O. J. Dogbey [et al.] // Avian Pathol. – 2019. – Vol. 48 (5) – P. 470–476; DOI: 10.1080/03079457.2019.1624687.

10. 10. Avian influenza outbreak in poultry in the Lebanon and transmission to neighbouring farmers and swine / E. K. Barbour, V. K. Sagherian, N. K. Sagherian [et al.] // *Vet. Ital.* – 2006. – Vol. 42. – P. 77–85; PMID: 20429054.
11. Avian influenza virus H9N2 infections in farmed minks / C. Zhang, Y. Xuan, H. Shan [et al.] // *Virology*. – 2015. – Vol. 12:180; DOI: 10.1186/s12985-015-0411-4.
12. Characterization of avian H9N2 influenza viruses from United Arab Emirates 2000 to 2003 / U. B. Aamir, U. Wernery, N. Ilyushina, R. G. Webster // *Virology*. – 2007. – Vol. 361 (1). – P. 45–55; DOI: 10.1016/j.virol.2006.10.037.
13. Continuing evolution of H9N2 influenza viruses in Southeastern China / Y. K. Choi, H. Ozaki, R. J. Webby [et al.] // *J. Virol.* – 2004. – Vol. 78 (16). – P. 8609–8614; DOI: 10.1128/JVI.78.16.8609–8614.2004.
14. Current situation of H9N2 subtype avian influenza in China / M. Gu, L. Xu, X. Wang, X. Liu // *Vet. Res.* – 2017. – Vol. 48 (1). – P. 49; DOI: 10.1186/s13567-017-0453-2.
15. Ecology and molecular epidemiology of H9N2 avian influenza viruses isolated in Israel during 2000–2004 epizootic / S. Perk, A. Panshin, E. Shihmanter [et al.] // *Dev. Biol. (Basel)*. – 2006. – Vol. 124. – P. 201–209; PMID: 16447512.
16. Enhanced infection of avian influenza virus H9N2 with infectious laryngeotracheitis vaccination in chickens / N. Arafat, A. H. Eladl, B. H. Marghani [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 2018. – Vol. 219. – P. 8–16; DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.04.009.
17. Enzoootic genotype S of H9N2 avian influenza viruses donates internal genes to emerging zoonotic influenza viruses in China / M. Gu, H. Chen, Q. Li [et al.] // *Vet. Microbiol.* – 2014. – Vol. 174 (3–4). – P. 309–315; DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.09.029.
18. First outbreaks and phylogenetic analyses of avian influenza H9N2 viruses isolated from poultry flocks in Morocco / M. EL Houadfi, S. Fellahi, S. Nassik [et al.] // *Virology*. – 2016. – Vol. 13 (1):140; DOI: 10.1186/s12985-016-0596-1.
19. H9N2 influenza viruses from birds used in falconry / U. Wernery, K. K. Shanmuganatham, P. S. Krylov [et al.] // *Influenza Other Respir. Viruses*. – 2013. – Vol. 7 (6). – P. 1241–1245; DOI: 10.1111/irv.12143.
20. Homme P. J., Easterday B. C. Avian influenza virus infections. I. Characteristics of influenza A-turkey Wisconsin-1966 virus // *Avian Dis.* – 1970. – Vol. 14. – P. 66–74; PMID: 4314007.
21. Infectivity and transmissibility of H9N2 avian influenza virus in chickens and wild terrestrial birds / M. Iqbal, T. Yaqub, N. Mukhtar [et al.] // *Vet. Res.* – 2013. – Vol. 44:100; DOI: 10.1186/1297-9716-44-100.
22. Isolation of avian influenza virus (H9N2) from emu in China / W. Kang, W. Pang, J. Hao, D. Zhao // *Ir. Vet. J.* – 2006. – Vol. 59 (3). – P. 148–152; DOI: 10.1186/2046-0481-59-3-148.
23. Khamas E. J. Avian influenza (H9N2) outbreak in Iraq // *Iraqi J. Vet. Med.* – 2008. – Vol. 32 (1). – P. 223–230.
24. Lee D.-H., Song C.-S. H9N2 avian influenza virus in Korea: evolution and vaccination // *Clin. Exp. Vaccine Res.* – 2013. – Vol. 2 (1). – P. 26–33; DOI: 10.7774/cevr.2013.2.1.26.
25. Molecular characterization and receptor binding specificity of H9N2 avian influenza viruses based on poultry-related environmental surveillance in China between 2013 and 2016 / S. Zou, Y. Zhang, X. Li [et al.] // *Virology*. – 2019. – Vol. 529. – P. 135–143; DOI: 10.1016/j.virol.2019.01.002.
26. Nagy A., Mettenleiter T. C., Abdelwhav E. M. A brief summary of the epidemiology and genetic relatedness of avian influenza H9N2 virus in birds and mammals in the Middle East and North Africa // *Epidemiol. Infect.* – 2017. – Vol. 145 (16). – P. 3320–3333; DOI: 10.1017/S0950268817002576.
27. Serological evidence of H9N2 avian influenza virus exposure among poultry workers from Fars province of Iran / A. Heidari, M. Mancin, H. Nili [et al.] // *Virology*. – 2016. – Vol. 13:16; DOI: 10.1186/s12985-016-0472-z.
- патогенности]: approved on August 28, 1995 No. 14. URL: <http://docs.cntd.ru/document/901799960> (in Russian).
5. SR 1.3.3118-13. Safe Handling of the microorganisms of pathogenicity group I–IV [Bezopasnost' raboty s mikroorganizmami I–II grupp patogennosti (opasnosti)]: approved on November 28, 2013 No. 64. URL: <http://docs.cntd.ru/document/499061798> (in Russian).
6. Antigenic evolution of H9N2 chicken influenza viruses isolated in China during 2009–2013 and selection of a candidate vaccine strain with broad cross-reactivity. Y. Wei, G. Xu, G. Zhang [et al.]. *Vet. Microbiol.* 2016; 182: 1–7; DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.10.031.
7. Assessment of national strategies for control of high-pathogenicity avian influenza and low-pathogenicity notifiable avian influenza in poultry, with emphasis on vaccines and vaccination. D. E. Swayne, G. Pavade, K. Hamilton [et al.]. *Rev. Sci. Tech. OIE*. 2011; 30 (3): 839–870.
8. Avian Influenza (H9N2) among poultry workers in Iran. E. Alizadeh, M. T. Kheiri, V. Mazaheri [et al.]. *Iran. J. Microbiol.* 2009; 1 (3): 3–6.
9. Avian influenza H9N2 subtype in Ghana: virus characterization and evidence of co-infection. J. A. Awuni, A. Bianco, O. J. Dogbey [et al.]. *Avian Pathol.* 2019; 48 (5): 470–476; DOI: 10.1080/03079457.2019.1624687.
10. Avian influenza outbreak in poultry in the Lebanon and transmission to neighbouring farmers and swine. E. K. Barbour, V. K. Sagherian, N. K. Sagherian [et al.]. *Vet. Ital.* 2006; 42: 77–85; PMID: 20429054.
11. Avian influenza virus H9N2 infections in farmed minks. C. Zhang, Y. Xuan, H. Shan [et al.]. *Virology*. 2015; 12:180; DOI: 10.1186/s12985-015-0411-4.
12. Characterization of avian H9N2 influenza viruses from United Arab Emirates 2000 to 2003. U. B. Aamir, U. Wernery, N. Ilyushina, R. G. Webster. *Virology*. 2007; 361 (1): 45–55; DOI: 10.1016/j.virol.2006.10.037.
13. Continuing evolution of H9N2 influenza viruses in Southeastern China. Y. K. Choi, H. Ozaki, R. J. Webby [et al.]. *J. Virol.* 2004; 78 (16): 8609–8614; DOI: 10.1128/JVI.78.16.8609–8614.2004.
14. Current situation of H9N2 subtype avian influenza in China. M. Gu, L. Xu, X. Wang, X. Liu. *Vet. Res.* 2017; 48 (1): 49; DOI: 10.1186/s13567-017-0453-2.
15. Ecology and molecular epidemiology of H9N2 avian influenza viruses isolated in Israel during 2000–2004 epizootic. S. Perk, A. Panshin, E. Shihmanter [et al.]. *Dev. Biol. (Basel)*. 2006; 124: 201–209; PMID: 16447512.
16. Enhanced infection of avian influenza virus H9N2 with infectious laryngeotracheitis vaccination in chickens. N. Arafat, A. H. Eladl, B. H. Marghani [et al.]. *Vet. Microbiol.* 2018; 219: 8–16; DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.04.009.
17. Enzoootic genotype S of H9N2 avian influenza viruses donates internal genes to emerging zoonotic influenza viruses in China. M. Gu, H. Chen, Q. Li [et al.]. *Vet. Microbiol.* 2014; 174 (3–4): 309–315; DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.09.029.
18. First outbreaks and phylogenetic analyses of avian influenza H9N2 viruses isolated from poultry flocks in Morocco. M. EL Houadfi, S. Fellahi, S. Nassik [et al.]. *Virology*. 2016; 13 (1):140; DOI: 10.1186/s12985-016-0596-1.
19. H9N2 influenza viruses from birds used in falconry. U. Wernery, K. K. Shanmuganatham, P. S. Krylov [et al.]. *Influenza Other Respir. Viruses*. 2013; 7 (6): 1241–1245; DOI: 10.1111/irv.12143.
20. Homme P. J., Easterday B. C. Avian influenza virus infections. I. Characteristics of influenza A-turkey Wisconsin-1966 virus. *Avian Dis.* 1970; 14: 66–74; PMID: 4314007.
21. Infectivity and transmissibility of H9N2 avian influenza virus in chickens and wild terrestrial birds. M. Iqbal, T. Yaqub, N. Mukhtar [et al.]. *Vet. Res.* 2013; 44:100; DOI: 10.1186/1297-9716-44-100.
22. Isolation of avian influenza virus (H9N2) from emu in China. W. Kang, W. Pang, J. Hao, D. Zhao. *Ir. Vet. J.* 2006; 59 (3): 148–152; DOI: 10.1186/2046-0481-59-3-148.
23. Khamas E. J. Avian influenza (H9N2) outbreak in Iraq. *Iraqi J. Vet. Med.* 2008; 32 (1): 223–230.
24. Lee D.-H., Song C.-S. H9N2 avian influenza virus in Korea: evolution and vaccination. *Clin. Exp. Vaccine Res.* 2013; 2 (1): 26–33; DOI: 10.7774/cevr.2013.2.1.26.
25. Molecular characterization and receptor binding specificity of H9N2 avian influenza viruses based on poultry-related environmental surveillance in China between 2013 and 2016. S. Zou, Y. Zhang, X. Li [et al.]. *Virology*. 2019; 529: 135–143; DOI: 10.1016/j.virol.2019.01.002.
26. Nagy A., Mettenleiter T. C., Abdelwhav E. M. A brief summary of the epidemiology and genetic relatedness of avian influenza H9N2 virus in birds and mammals in the Middle East and North Africa. *Epidemiol. Infect.* 2017; 145 (16): 3320–3333; DOI: 10.1017/S0950268817002576.
27. Serological evidence of H9N2 avian influenza virus exposure among poultry workers from Fars province of Iran. A. Heidari, M. Mancin, H. Nili [et al.]. *Virology*. 2016; 13:16; DOI: 10.1186/s12985-016-0472-z.

REFERENCES

1. Veterinary rules of avian influenza A laboratory diagnosis [Veterinarnye pravila laboratornoj diagnostiki grippa A ptic]: approved by the Order of the RF Ministry of Agriculture of April 03, 2006 No. 105. URL: <https://www.fsvps.ru/fsvps-docs/ru/iac/flu/laws/prikaz-105.pdf> (in Russian).
2. Veterinary rules of poultry management on the closed-type poultry farms (poultry factories) [Veterinarnye pravila soderzhaniya ptic na pticevodcheskikh predpriyatiyakh zakrytogo tipa (pticefabrikah)]: approved by the Order of the RF Ministry of Agriculture of April 03, 2006 No. 104. M., 2006 (in Russian).
3. Rules of avian influenza control [Pravila po bor'be s grippom ptic]: approved by the Order of the RF Ministry of Agriculture of April 27, 2006 No. 90. M., 2006 (in Russian).
4. SR 1.2.036-95. Procedure of recording, storage, transfer and transportation of microorganisms of pathogenicity group I–IV [Poryadok ucheta, hraneniya, peredachi i transportirovaniya mikroorganizmov I–IV grupp

Поступила 26.07.19
Принята в печать 22.08.19

МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТИПИРОВАНИЕ МЕТИЦИЛЛИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MSSA), ИЗОЛИРОВАННЫХ ОТ ОБЕЗЬЯН, НА ОСНОВЕ ПОЛИМОРФИЗМА КОАГУЛАЗНОГО ГЕНА

В. А. Калашникова

Ведущий научный сотрудник, кандидат биологических наук, ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Россия, e-mail: vikky.aw@gmail.com; ORCID ID 0000-0002-1574-8674

РЕЗЮМЕ

Staphylococcus aureus — очень опасный микроорганизм, вызывающий более 100 нозологических форм заболеваний у человека и животных, включая пневмонии, инфекции кожи и мягких тканей, пищевые токсикоинфекции, нагноение ран и т. д. По генотипированию *Staphylococcus aureus*, выделенных от людей, из пищевых продуктов и при маститах у коров, проведено много исследований. Отсутствие сведений по генотипированию данных возбудителей, обнаруженных у обезьян, живущих в условиях неволи, побудило провести аналогичную работу, поскольку инфекции стафилококковой природы у приматов широко распространены. Настоящее исследование посвящено изучению полиморфизма вариабельного участка коагулазного гена и типированию изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных от обезьян разных видов, проживающих в Адлерском питомнике. 115 изолятов *Staphylococcus aureus* изучали фенотипическими и молекулярно-генетическими методами. Генотипирование проводили с помощью ПЦР, ПЦР в реальном времени и ПЦР с последующим анализом полиморфизма длины рестрикционных фрагментов. Исследование методом ПЦР в режиме реального времени позволило отнести все *Staphylococcus aureus* к метициллин-чувствительным стафилококкам (MSSA). При амплификации вариабельного

участка коагулазного гена получено 4 вида ампликонов протяженностью 600, 700, 800 и 900 н. п. Эти данные указывают на существование структурных различий данного гена у исследованных изолятов. Преобладал коагулазный ген протяженностью 900 н. п. Использование эндонуклеазы *Cfo1* позволило выявить 23 различных профиля рестрикции *coa*-гена, однако только три из них доминировали. Бактерии *Staphylococcus aureus* с семью типами коагулазного гена были обнаружены только в легких обезьян, погибших от пневмонии, что позволяет сделать вывод о том, что данные изоляты имеют тропность к легочной ткани. Среди *Staphylococcus aureus*, обнаруженных при пневмониях, наиболее распространенными были изоляты с тремя типами *coa*-гена. К инвазивным изолятам можно отнести *Staphylococcus aureus* одиннадцати типов коагулазного гена, поскольку их удалось обнаружить при исследовании в тканях различных органов. Стафилококковая инфекция у обезьян, содержащихся в питомнике, обусловлена генотипически гетерогенной популяцией *Staphylococcus aureus*.

Ключевые слова: обезьяны, *Staphylococcus aureus*, коагулазный ген, ПЦР-ПДРФ, *coa*-тип, ПДРФ-паттерн.

UDC 579.861.2:599.82

MOLECULAR TYPING OF METHICILLIN-SUSCEPTIBLE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (MSSA), ISOLATED FROM MONKEYS, BASED ON COAGULASE GENE POLYMORPHISM

V. A. Kalashnikova

Leading Researcher, Candidate of Science (Biology), FSBSI "SRI MP", Sochi, Russia, e-mail: vikky.aw@gmail.com; ORCID ID 0000-0002-1574-8674

SUMMARY

Staphylococcus aureus is a very dangerous microorganism that causes more than 100 nosological forms of disease in humans and animals, including pneumonia, skin and soft tissue infections, food toxicoinfections, wound abscess, etc. Numerous studies on genotyping *Staphylococcus aureus*, isolated from humans, food and bovine mastitis have been carried out. The lack of information on the genotyping of these pathogens detected in monkeys living in captivity served as a stimulus to conduct a similar research, since staphylococcal infections in the primates are widespread. The present study is devoted to the study of the polymorphism of a variable region of the coagulase gene and to the typing of *Staphylococcus aureus* isolates from monkeys of different species kept at Adler monkey farm. 115 *Staphylococcus aureus* isolates were studied using phenotypic and molecular genetic methods. Genotyping was performed using PCR, real-time PCR and PCR with subsequent restriction fragment length polymorphism analysis (PCR-RFLP). A real-time PCR analysis allowed to classify all *Staphylococcus aureus* as methicillin-susceptible staphylococci (MSSA). After amplification of a variable region of the coagulase

gene, 4 types of amplicons of 600, 700, 800, and 900 bp were generated. This data demonstrates structural differences of this gene in the studied isolates. The coagulase gene of 900 bp prevailed. The use of the *Cfo1* endonuclease allowed to identify 23 different restriction profiles of the *coa* gene, but only three of them predominated. *Staphylococcus aureus* bacteria with seven types of coagulase gene were found only in the lungs of monkeys that died of pneumonia. The results obtained suggest that these isolates have tropism for lung tissue. Among *Staphylococcus aureus* isolated from pneumonia cases, isolates with three types of the *coa* gene prevailed. *Staphylococcus aureus* of eleven types of coagulase gene can be attributed to the invasive isolates, since they were detected in the tissues of various organs. Staphylococcal infection in monkeys kept at the monkey farm is caused by genotypically heterogeneous population of *Staphylococcus aureus*.

Key words: monkeys, *Staphylococcus aureus*, coagulase gene, PCR-RFLP, *coa* type, RFLP-pattern.

ВВЕДЕНИЕ

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) представляет собой уникальный микроорганизм, являющийся одним из важнейших оппортунистических патогенов, играющих существенную роль в возникновении инфекционных процессов у животных. Этот микроб часто вызывает пневмонии, флегмоны, артриты, гнойные воспаления ран, поражение костей и суставов у домашних и диких животных (кошек, собак, коров, овец, лошадей, свиней, крыс, тюленей, морских свинок и др.) [6, 14]. Он же является возбудителем маститов, послеродового эндометрита у коров и свиноматок [1, 2, 9, 15]. Бактерия *S. aureus* выделялась при конъюнктивитах у кошек как сопутствующая хламидийная инфекция [4]. К тому же *S. aureus* может бессимптомно колонизировать животных. При этом бессимптомные носители, как правило, выступают в качестве резервуаров возбудителя инфекции во время вспышек, вызванных *S. aureus*, и являются предрасполагающим фактором для заражения. В настоящее время большое внимание уделяется изучению метициллин-резистентных золотистых стафилококков (MRSA), частота выявления которых в последнее десятилетие значительно выросла, а также их передаче от людей к животным и наоборот [6]. Из литературных данных известно, что потенциальным резервуаром для MRSA являются метициллин-чувствительные *S. aureus* (MSSA) [7]. Важный вирулентный фактор золотистого стафилококка – коагулаза, выявление которой используется в лабораторной практике как критерий отличия патогенных *S. aureus* от других видов стафилококков. Коагулаза представляет собой внеклеточный протеин, способный связываться с протромбином, образуя комплекс стафилотромбин, стимулирующий реакцию свертывания плазмы путем преобразования фибриногена в фибрин [16]. Коагулазный ген (*coa*), кодирующий коагулазный белок, высоко полиморфичен из-за переменных последовательностей, содержащих тандемные повторы в количестве 81 пары нуклеотидов на 3'-конце. Существует множество аллельных форм коагулазного гена, и каждый штамм *S. aureus* продуцирует одну или несколько таких форм [11]. Амплификация коагулазного гена зависит от гетерогенности области, содержащей тандемные повторы 81 н. п. в 3'-кодирующей области гена коагулазы, которая отличается как количеством этих тандемных повторов, так и расположением сайтов рестрикции для эндонуклеаз среди разных изолятов. Полиморфизм коагулазного гена используется как эпидемиологический маркер, его типирование осуществляется праймерами, гомологичными консервативному региону в пределах *coa*-гена [8]. С числом повторных последовательностей, отличающихся в пределах *coa*-гена, полученные ПЦР-продукты отдельных штаммов могут быть разной длины. Более простым и точным методом типирования *S. aureus* считается идентификация на основе полиморфизма длины ПЦР-рестрикционного фрагмента коагулазного гена (ПДРФ). ДНК-фрагменты, разделенные в гель-электрофорезе, позволяют сравнить их длины (ПДРФ-паттерн). ПЦР-продукты различных штаммов показывают различные ПДРФ-паттерны коагулазного гена. Этот метод типирования помогает в изучении происхождения штаммов и генетических линий штаммов, выделенных из различных источников, а также получения эпидемиологической информации [9, 11].

В настоящее время диагностике и генетическому исследованию *S. aureus* у животных, а тем более

у приматов, уделяется мало внимания [3]. Молекулярно-генетическое типирование изолятов *S. aureus*, выделенных у низших обезьян, содержащихся в условиях неволи, за рубежом не проводится. Отсутствие данных по генетическому разнообразию и молекулярной эпидемиологии *S. aureus* у низших приматов побудило провести данное исследование. В настоящей работе использовали метод типирования коагулазного гена на основе ПЦР-ПДРФ для различия штаммов *S. aureus*, изолированных от обезьян различных видов.

Цель исследования – генотипировать изоляты *S. aureus*, выделенные от обезьян, путем молекулярного типирования гена коагулазы с использованием метода ПЦР-ПДРФ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании использовано 115 изолятов *S. aureus*, выделенных от обезьян 6 видов, проживающих в Адлерском питомнике: макак-резус ($n = 42$), макак яванский ($n = 37$), макак лапундер ($n = 2$), мартышка зеленая ($n = 5$), павиан анубис ($n = 5$), павиан гамадрил ($n = 24$). При этом 79 изолятов *S. aureus* были выделены из легких животных, погибших от пневмонии; 32 изолята обнаружены в различных органах, таких как почка ($n = 5$), печень ($n = 10$), селезенка ($n = 6$), лимфоузел ($n = 8$), матка ($n = 1$), а также в паренхиматозной жидкости ($n = 2$). Четыре изолята *S. aureus* выделены при исследовании материала от живых обезьян: гной из раны ($n = 2$), глаза ($n = 1$), зев ($n = 1$).

Выделение и идентификация стафилококков. Для выделения стафилококков проводилось стандартное бактериологическое исследование, включающее посев на селективные и дифференциально-диагностические питательные среды (желточно-солевой агар, 5%-й кровяной агар), микроскопирование мазков, окрашенных по Граму, определение биохимических свойств выделенных культур. Посев материала на питательные среды производили общепринятыми в микробиологической практике методами. Идентификацию осуществляли на основании морфологических, тинкториальных, плазмокоагулирующих и биохимических свойств стафилококков и латекс-агглютинации. Видовую идентификацию проводили с помощью коммерческих тест-систем «Мультимикротесты для биохимической идентификации стафилококков (ММТ С)» (НПО «Иммунотэк», Россия). Серологическое исследование проводилось с помощью набора латекс-агглютинации Dryspot Staphytest Plus (Oxoid, Великобритания), позволяющего идентифицировать штаммы *S. aureus* по прилагаемой инструкции. Взятые для молекулярно-генетического исследования 115 штаммов *S. aureus* хранились при температуре минус 20 °C.

Экстракция геномной ДНК *S. aureus*. Выделение тотальной ДНК *S. aureus* осуществляли из бактериальных суспензий ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл, эквивалентных значению 0,5 стандарта мутности МакФарланда), приготовленных из суточных агаровых культур *S. aureus* и суспендированных в 100 мкл NaCl с использованием набора реактивов «ДНК-сорб-В» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) согласно инструкции производителя.

ПЦР-детекция гена *tesA* *S. aureus*. Постановку реакции амплификации в режиме реального времени осуществляли с использованием коммерческой тест-системы «АмплиСенс MRSA-скрин-титр-FL» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) на флюоресцентном

детектирующем термоциклере RotorGene (США) согласно прилагаемой инструкции. Коммерческая тест-система позволяет идентифицировать *S. aureus* и детектировать генетические детерминанты резистентности бактерий, обуславливающие устойчивость к β -лактамам антибиотикам пенициллинового ряда у стафилококков (ген *tesA*).

Детекция коагулазного гена *S. aureus*. ПЦР-амплификацию 3'-концевой области гена коагулазы проводили специфическими описанными в литературе [10] олигонуклеотидными праймерами, синтезированными фирмой ЗАО «Евроген» (Россия). Для ПЦР использовали готовые мастермиксы ScreenMix-HS (ЗАО «Евроген», Россия). Амплификацию геномной ДНК проводили в объеме 25 мкл реакционной смеси, включающей: 5 мкл амплификационной смеси ScreenMix-HS, 5 мкл праймеров, 5 мкл деионизированной воды и 10 мкл ДНК. Реакция амплификации шла в автоматическом программируемом термоциклере «Терцик» (ООО «НПО ДНК-технология», Россия) по следующей программе амплификации ДНК: предварительная денатурация – 94 °C в течение 2 мин (1 цикл); денатурация, отжиг, пролонгация – 94 °C 30 сек., 57 °C 30 сек., 72 °C 20 сек. (30 циклов); финальная пролонгация – 72 °C 5 мин (1 цикл).

ПЦР-ПДРФ. Соа-ПЦР-ПДРФ-анализ осуществляли по методике J. V. Hooley и соавт. [10] с использованием рестрикционной эндонуклеазы *CfoI* (Promega, США) по прилагаемой инструкции. Дальнейший анализ проводили на основе определения размеров полученных ампликонов, количества и протяженности фрагментов рестрикции. Соа-ПЦР-ПДРФ-паттерны представляли в виде цифрового кода: первое число (до косой черты) соответствует размеру ПЦР-продукта, а затем (после косой черты) указаны размеры рестрикционных *CfoI*-фрагментов.

Гель-электрофорез. Визуализацию продуктов амплификации осуществляли с помощью гель-электрофореза в Трис-ацетатном буфере (ТАЕ) с использованием 2%-го агарозного геля (агароза Sigma, США) в градиенте напряжения 150 В в течение 20 мин (электрофорез продуктов рестрикции при 80 В в течение 1 ч). Гель окрашивали раствором бромистого этидия (0,5 мкг/мл) и по окончании электрофореза просматривали его в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе (длина волны 254 нм). Размер ампликонов определяли, используя ДНК-маркер 100–1200 н. п. (ЗАО «Евроген», Россия). Результаты реакции фотографировали в УФ-свете.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все изученные культуры стафилококков характеризовались наличием лецитиназной и гемолитической активности, обладали плазмокоагулирующей способностью (способностью к свертыванию плазмы крови кролика) и ферментировали маннит в анаэробных условиях. В мазках, приготовленных из выросших на питательной среде культур, стафилококки имели вид характерных скоплений кокков (напоминающих гроздь винограда), окрашенных по Граму положительно. По результатам биохимической идентификации с помощью тест-систем «Мультимикротесты для биохимической идентификации стафилококков (ММТ С)» и латекс-агглютинации для молекулярно-генетического исследования были отобраны изоляты, прошедшие тестирование по всем признакам как *S. aureus*.

Исследование с целью детекции гена *tesA*, являющегося генетической детерминантой резистентности бактерий, обуславливающей устойчивость стафилококков к β -лактамам антибиотикам пенициллинового ряда, показало, что у всех культур *S. aureus* в геноме указанный ген отсутствовал, то есть культуры оказались метициллин-чувствительные (MSSA).

Как известно, коагулазу продуцируют все штаммы *S. aureus*. 115 изолятов *S. aureus* были исследованы на полиморфизм коагулазного гена и анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов. В результате получили 4 ампликона различной длины – 600, 700, 800 и 900 н. п., что указывает на вариативность размеров ампликонов, а значит, на существование структурных различий коагулазного гена у исследуемых изолятов (табл. 1).

В исследуемой выборке преобладали изоляты *S. aureus*, у которых вариативный участок коагулазного гена имел протяженность 900 н. п. (46%). Вторым по частоте распространения, обнаруженным у 41 изолята, был ампликон 700 н. п. (36%). У 16 и 5 изолятов размер коагулазного гена составил 600 и 800 н. п. (14 и 4%) соответственно. Частота выявления соа-ампликонов у *S. aureus*, выделенных из различных органов, представлена в таблице 1.

Как видно из представленных в таблице данных, чаще у *S. aureus*, изолированных из легких погибших от пневмонии обезьян, обнаружены соа-ампликоны размером 900 н. п. (33 изолята) и 700 н. п. (30 изолятов). Ампликон размером 600 н. п. детектирован у 14 изолятов *S. aureus*, выделенных из легких, а также из печени и паренхиматозной жидкости.

Следующей задачей было проведение ПДРФ-типирования данных изолятов. ПЦР-продукты

Таблица 1
Частота обнаружения соа-ампликонов

Источник изоляции	Длина соа-ампликона, н. п.	Количество изолятов
Легкие (n = 79)	600	14
	700	30
	800	2
	900	33
Печень (n = 10)	600	1
	700	5
	900	4
Селезенка (n = 6)	800	1
	900	5
Почка (n = 5)	700	1
	900	4
Лимфоузел (n = 8)	700	3
	800	2
	900	3
Матка (n = 1)	700	1
Паренхиматозная жидкость (n = 2)	600	1
	900	1
Гной (n = 2)	900	2
Глаз (n = 1)	700	1
Зев (n = 1)	900	1
Всего		115

Таблица 2
ПЦР-ПДРФ коагулазного гена изолятов MSSA, выделенных от обезьян

Источник изоляции	Количество изолятов	Паттерны <i>coa</i> -ПЦР-ПДРФ	ПЦР-ПДРФ-тип
Лег. (n = 9)	9	600/150-250	I
Лег. (n = 3), печ. (n = 4)	7	600/80-150-300	II
Лег. (n = 13), сел. (n = 1)	14	700/80-150-180-300	III
Лег. (n = 5), печ. (n = 3), л/у (n = 2), поч. (n = 1), глаз (n = 1)	12	700/700	IV
Лег. (n = 4), л/у (n = 1)	5	700/150-450	V
Лег.	3	700/250-600	VI
Лег.	2	700/80-150-400	VII
Лег.	2	700/100-200-350	VIII
Лег., матка	2	700/200-500	IX
Печ.	1	700/150-550	X
Лег., сел.	2	800/80-180-300	XI
Лег., сел.	2	800/150-500	XII
Л/у	1	800/150-200-300	XIII
Поч. (n = 16), л/у (n = 2), сел. (n = 5), поч. (n = 2), печ. (n = 1), гной (n = 1), зев (n = 1)	28	900/80-250-300	XIV
Поч. (n = 1), лег. (n = 4), л/у (n = 1), гной (n = 1)	7	900/100-250-350	XV
Лег. (n = 4), паренх. жид. (n = 1)	5	900/80-140-300-500	XVI
Лег. (n = 2), печ. (n = 1)	3	900/100-250-500	XVII
Лег.	2	900/80-150-250-450	XVIII
Лег.	2	900/100-180-350	XIX
Лег.	2	900/140-300-500	XX
Печ.	1	900/80-220-480	XXI
Поч.	1	900/100-180-220-500	XXII
Печ.	1	900/250-500	XXIII

лег. – легкое, печ. – печень, сел. – селезенка, поч. – почка, л/у – лимфоузел, паренх. жид. – паренхиматозная жидкость.

коагулазного гена были исследованы рестрикционным анализом и разделены эндонуклеазой *Sfo1* на отдельные фрагменты. Число паттернов рестрикции варьировало от одного до четырех, а размер рестрикционных фрагментов колебался от 80 н. п. до 600 н. п. (табл. 2).

ПЦР-ПДРФ-анализ ампликонов показал наличие 23 типов коагулазного гена, следовательно, обнаружено 23 различных штамма *S. aureus*, циркулирующих у обезьян, содержащихся в питомнике. Изоляты каждой группы характеризовались одинаковым размером ампликонов и специфическими сайтами рестрикции. Отсутствие различий в размерах ампликонов свидетельствует об отсутствии различий в числе нуклеотидных повторов, а одинаковые сайты рестрикции указывают на структурное сходство этих повторов.

Среди изолятов, сформировавших ампликоны протяженностью 600 н. п., были выявлены 2 типа рестрикции с *Sfo1*. Ампликоны размером 700 н. п. дали 8 типов рестрикции. В данной выборке 12 изолятов не были расщеплены *Sfo1*, то есть не имели сайта рестрикции

для этой эндонуклеазы (паттерн 700/700 н. п.). Ампликоны протяженностью 800 н. п. дали 3 типа рестрикции. При ПДРФ-анализе ампликонов размером 900 н. п. получено 10 типов рестрикции.

Анализ ПДРФ-паттернов показал, что наиболее распространенным был паттерн 900/80-250-300 н. п. (XIV тип ПЦР-ПДРФ), выявленный у 28 *coa*-ампликонов. Вторая по численности группа (n = 14) представлена изолятами *S. aureus*, образовавшими ампликон протяженностью 700 н. п. и давшими 4 фрагмента рестрикции протяженностью 80-150-180-300 н. п. (III тип ПЦР-ПДРФ). У 9 *coa*-ампликонов обнаружены паттерны 600/150-250 н. п. (I тип *coa*-гена). *Coa*-паттерны 600/80-150-300 и 900/100-250-350 н. п. (II и XV *coa*-типы соответственно) выявлены у 7 ампликонов. Наиболее редкими были 13 ПДРФ-профилей коагулазного гена, выявленные у одного или двух изолятов.

При проведении исследования сделана попытка проследить взаимосвязь между структурой коагулазного гена (*coa*-ПЦР-ПДРФ-паттернами) и способностью

данных изолятов вызывать пневмонию у обезьян. Семь типов коагулазного гена *S. aureus* было выявлено только в легких. Вероятнее всего, данные изоляты имеют тропность к легочной ткани. Среди *S. aureus*, обнаруженных при пневмониях, наиболее распространенными были изоляты с XIV, III и I типами *coa*-гена. К инвазивным изолятам можно отнести *S. aureus* одиннадцати типов коагулазного гена, поскольку их удалось обнаружить при исследовании в тканях различных органов. Следовательно, стафилококковая инфекция у обезьян обусловлена генотипически гетерогенной популяцией возбудителя.

Анализируя данные исследования структурного полиморфизма коагулазного гена, было замечено, что некоторые *coa*-паттерны изученных изолятов *S. aureus* встречаются у определенного вида обезьян. Например, паттерн 700/100-200-350 н. п. (VIII тип *coa*-гена) обнаружен у *S. aureus*, изолированных из легких двух павианов гамадрилов; 800/150-200-300 н. п. (XIII тип *coa*-гена) – у *S. aureus*, выделенных из лимфоузла обезьяны этого же вида; 700/250-600 н. п. (VI тип *coa*-гена) – у *S. aureus*, выделенных из легких трех макак яванских; 700/150-550 н. п. (X тип *coa*-гена) – у макака яванского из печени. Таким образом, можно предположить, что существуют некоторые штаммы *S. aureus*, циркулирующие среди конкретных видов обезьян, но этот вопрос требует дальнейшего изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфекция, обусловленная *S. aureus*, довольно часто встречается у обезьян, живущих в Адлерском питомнике. Высев этих микробов в высоких диагностических титрах из органов, тканей, жидкостей и полостей организма, которые в норме должны быть стерильными, рассматривался как подтверждение этиологической роли данного микроорганизма в развитии заболевания. По результатам исследования установлено, что все выделенные от обезьян *S. aureus* обладали патогенными свойствами и отнесены к MSSA, поскольку при амплификации со специфическими праймерами методом ПЦР с флуоресцентной меткой у них не обнаружен ген *tesA*.

Продукция коагулазы – важный фенотипический признак, использующийся для идентификации *S. aureus*. Как известно, ПДРФ-анализ является «золотым стандартом» молекулярного типирования изолятов *S. aureus*, так как этот метод считается технически простым и легко воспроизводимым, обладающим высокой степенью специфичности, поэтому успешно используется в изучении эпидемиологии инфекций, вызванных *S. aureus* [5]. Вариабельность 3'-концевого региона коагулазного гена – основа метода типирования для изолятов, выделенных от людей и животных [8, 12, 13, 15]. По утверждению A. Salehzadeh и соавт., разница в типах коагулазного гена может быть связана с географической изменчивостью [12]. Этот полиморфизм также обусловлен различными мутациями, посредством которых часть 3'-концевого региона гена удаляется или вставляются несколько новых нуклеотидов, и, как следствие, изменяется размер коагулазного гена.

Проведенное при исследовании генетическое типирование *S. aureus*, изолированных от обезьян, на основе полиморфизма коагулазного гена подтвердило высокую степень гетерогенности *coa*-гена *S. aureus*.

Изучение фрагмента коагулазного гена методом гелеэлектрофореза показало наличие ампликонов четырех размеров – протяженностью 600, 700, 800, 900 н. п., что указывает на существование структурных различий данного гена у исследованных изолятов. Однако в данной выборке преобладал коагулазный ген протяженностью 900 н. п. (46%). Методом ПЦР-ПДРФ обнаружено 23 геноварианта MSSA. Несмотря на то что было выявлено большое количество генотипов *coa*-гена, доминировали только несколько. Большинство штаммов *S. aureus*, выделенных от обезьян, относились к XIV, III и IV типам. Чаще при пневмониях были обнаружены *S. aureus* с тремя ПЦР-ПДРФ профилями коагулазного гена (XIV, III и I). Следовательно, эти изоляты имеют тропность к тканям легкого.

Полученные данные согласуются с результатами исследований других авторов, подтверждающих наличие нескольких генотипов *S. aureus*, выделенных от людей и животных [8, 11, 15]. Исследование полиморфизма коагулазного гена может использоваться как инструмент для оценки эпизоотической ситуации по стафилококковой инфекции в стаде обезьян питомника. Дальнейшее изучение доминирующих геновариантов *S. aureus*, выявление их общих характеристик (например, антибиотикоустойчивости) также может быть использовано для разработки мер профилактики и лечения пневмоний стафилококковой природы у обезьян.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Иванова С. Н. Результаты мониторинга чувствительности к антибиотикам и препарату «ЭПЛ» условно-патогенной микрофлоры, выделенной из маточно-цервикального секрета больных «синдромом ММА» свиноматок // Вестник Ульяновской ГСХА. – 2011. – № 2 (14). – С. 69–72. – URL: <http://lib.ugsha.ru:8080/handle/123456789/636>.
2. Косолюков Л. Н., Иванова С. Н. Микрофлора содержимого матки коров при послеродовых эндометритах и ее чувствительность к антибактериальным средствам и прополису // Вестник Ульяновской ГСХА. – 2013. – № 1 (21). – С. 83–88. – URL: <http://lib.ugsha.ru:8080/handle/123456789/877>.
3. Молекулярно-генетическое типирование *Staphylococcus aureus*, выделенных от обезьян / В. А. Калашникова, О. А. Дмитренко, З. К. Тасилевич, Э. К. Джикидзе // Вестник ветеринарии. – 2012. – № 1. – С. 73–77. – URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_20888807_50794656.pdf.
4. Чубин А. Н., Бердников П. П. Инфекционные офтальмохламидиозы кошек и новые методы лечения // Вестник Алтайского ГАУ. – 2010. – № 7 (69). – С. 54–56. – URL: http://www.asau.ru/vestnik/2010/7/Vetmed_Chubin.pdf.
5. Abdulghany H. M., Khairy R. M. The frequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Coagulase* gene polymorphism in Egypt // Int. J. Bacteriol. – 2014. – Vol. 2014, Article ID 680983; DOI: 10.1155/2014/680983.
6. Alarming proportions of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in wound samples from companion animals, Germany 2010–2012 / S. Vincze, I. Stamm, P. A. Kopp [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9 (1):e85656; DOI: 10.1371/journal.pone.0085656.
7. Characterisation of the virulence factors and genetic types of methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* from patients and healthy individuals / K-T. Lim, Y. A. Hanifah, M. Y. M. Yusof, K.-L. Thong // Indian J. Microbiol. – 2012. – Vol. 52 (4). – P. 593–600; DOI: 10.1007/s12088-012-0286-7.
8. Coagulase gene polymorphism, enterotoxigenicity, biofilm production, and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine raw milk in North West India / V. Sharma, S. Sharma, D. K. Dahiya [et al.] // Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. – 2017. – Vol. 16:65; DOI: 10.1186/s12941-017-0242-9.
9. Elsayed M. S., El-Bagoury A. M., Dawoud M. A. Phenotypic and genotypic detection of virulence factors of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and subclinical mastitis in cattle and water buffaloes from different farms of Sadat City in Egypt // Vet. World. – 2015. – Vol. 8 (8). – P. 1051–1058; DOI: 10.14202/vetworld.2015.1051-1058.

10. Hookey J. V., Richardson J. F., Cookson B. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene // *J. Clin. Microbiol.* – 1998. – Vol. 36 (4). – P. 1083–1089; PMID: PMC104694.
 11. Molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from Shiraz teaching hospitals by PCR-RFLP of coagulase gene / H. Khoshkham-Roodmajani, J. Sarvari, A. Bazargani [et al.] // *Iran J. Microbiol.* – 2014. – Vol. 6 (4). – P. 246–252; PMID: PMC4367941.
 12. Molecular typing of nosocomial *Staphylococcus aureus* strains associated to biofilm based on the coagulase and protein A gene polymorphisms / A. Salehzadeh, H. Zamani, M. Keshtkar Langeroudi, A. Mirzaie // *Iran J. Basic Med. Sci.* – 2016. – Vol. 19 (12). – P. 1325–1330; DOI: 10.22038/ijbms.2016.7919.
 13. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on coagulase gene / F. Javid, A. Taku, M. A. Bhat [et al.] // *Vet. World.* – 2018. – Vol. 11 (4). – P. 423–430; DOI: 10.14202/vetworld.2018.423-430.
 14. Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from goats in Chongqing, China / Z. Zhou, M. Zhang, H. Li [et al.] // *BMC Vet. Res.* – 2017. – Vol. 13 (1):352; DOI: 10.1186/s12917-017-1272-4.
 15. Rodrigues da Silva E., da Silva N. Coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis in Southeastern Brazil // *Can. J. Vet. Res.* – 2005. – Vol. 69 (4). – P. 260–264; PMID: PMC1250237.
 16. Schwarzkopf A., Karch H. Genetic variation in *Staphylococcus aureus* coagulase genes: potential and limits for use as epidemiological marker // *J. Clin. Microbiol.* – 1994. – Vol. 32 (10). – P. 2407–2412; PMID: PMC264075.
- ## REFERENCES
1. Ivanova S. N. The results of monitoring the sensitivity of opportunistic pathogenic microflora isolated from utero-cervical secretions of sows with the MMA syndrome to antibiotics and to the "EPL" preparation (placenta extract with hazel) [Rezultaty monitoringa chuvstvitel'nosti k antibiotikam i preparatu «EPL» uslovno-patogennoj mikroflory, vydelennoj iz matochno-cervikal'nogo sekreta bol'nyh «sindromom MMA» svinomatok]. *Vestnik Ulyanovskoi GSKhA*. 2011; 2 (14): 69–72; URL: <http://lib.ugsha.ru:8080/handle/123456789/636> (in Russian).
 2. Kosolovich L. N., Ivanova S. N. Bacterial flora of the uterus of cows with postpartum endometritis and its sensitivity to antibiotics and propolis [Mikroflora soderzhimogo matki korov pri poslerodovyh endometritah i ee chuvstvitel'nost' k antibakterial'nym sredstvam i propolisu]. *Vestnik Ulyanovskoi GSKhA*. 2013; 1 (21): 83–88; URL: <http://lib.ugsha.ru:8080/handle/123456789/877> (in Russian).
 3. Molecular genetic typing of *Staphylococcus aureus* isolated from monkeys [Molekulyarno-geneticheskoe tipirovanie *Staphylococcus aureus*, vydelennyh ot obes'yan]. V. A. Kalashnikova, O. A. Dmitrenko, Z. K. Stasilevich, E. K. Dzhydiz. *Vestnik veterinarii*. 2012; 1: 73–77; URL: https://elibrary.ru/download/elibrary_20888807_50794656.pdf (in Russian).
 4. Chubin A. N., Berdnikov P. P. Infectious ophthalmochlamidiosis in cats and new methods of treatment [Infekcionnye oftal'mohlamidiozy ko-
 - sheki novye metody lecheniya]. *Vestnik Altaiskogo SAU*. 2010; 7 (69): 54–56; URL: http://www.asau.ru/vestnik/2010/7/Vetmed_Chubin.pdf (in Russian).
 5. Abdulghany H. M., Khairy R. M. The frequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Coagulase* gene polymorphism in Egypt. *Int. J. Bacteriol.* 2014; 2014: Article ID 680983; DOI: 10.1155/2014/680983.
 6. Alarming proportions of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in wound samples from companion animals, Germany 2010–2012. S. Vincze, I. Stamm, P. A. Kopp [et al.]. *PLoS ONE*. 2014; 9 (1):e85656; DOI: 10.1371/journal.pone.0085656.
 7. Characterisation of the virulence factors and genetic types of methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* from patients and healthy individuals. K-T. Lim, Y. A. Hanifah, M. Y. M. Yusof, K.-L. Thong. *Indian J. Microbiol.* 2012; 52 (4): 593–600; DOI: 10.1007/s12088-012-0286-7.
 8. Coagulase gene polymorphism, enterotoxigenicity, biofilm production, and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine raw milk in North West India. V. Sharma, S. Sharma, D. K. Dahiya [et al.]. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2017; 16:65; DOI: 10.1186/s12941-017-0242-9.
 9. Elsayed M. S., El-Bagoury A. M., Dawoud M. A. Phenotypic and genotypic detection of virulence factors of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and subclinical mastitis in cattle and water buffaloes from different farms of Sadat City in Egypt. *Vet. World*. 2015; 8 (8): 1051–1058; DOI: 10.14202/vetworld.2015.1051-1058.
 10. Hookey J. V., Richardson J. F., Cookson B. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36 (4): 1083–1089; PMID: PMC104694.
 11. Molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from Shiraz teaching hospitals by PCR-RFLP of coagulase gene. H. Khoshkham-Roodmajani, J. Sarvari, A. Bazargani [et al.]. *Iran J. Microbiol.* 2014; 6 (4): 246–252; PMID: PMC4367941.
 12. Molecular typing of nosocomial *Staphylococcus aureus* strains associated to biofilm based on the coagulase and protein A gene polymorphisms. A. Salehzadeh, H. Zamani, M. Keshtkar Langeroudi, A. Mirzaie. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2016; 19 (12): 1325–1330; DOI: 10.22038/ijbms.2016.7919.
 13. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on coagulase gene. F. Javid, A. Taku, M. A. Bhat [et al.]. *Vet. World*. 2018; 11 (4): 423–430; DOI: 10.14202/vetworld.2018.423-430.
 14. Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from goats in Chongqing, China. Z. Zhou, M. Zhang, H. Li [et al.]. *BMC Vet. Res.* 2017; 13 (1):352; DOI: 10.1186/s12917-017-1272-4.
 15. Rodrigues da Silva E., da Silva N. Coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis in Southeastern Brazil. *Can. J. Vet. Res.* 2005; 69 (4): 260–264; PMID: PMC1250237.
 16. Schwarzkopf A., Karch H. Genetic variation in *Staphylococcus aureus* coagulase genes: potential and limits for use as epidemiological marker. *J. Clin. Microbiol.* 1994; 32 (10): 2407–2412; PMID: PMC264075.

Поступила 10.06.19
Принята в печать 15.07.19

УДК 619:579.843.94:614.48:615.371

DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-63-67

ОСОБЕННОСТИ ИНАКТИВАЦИИ БАКТЕРИЙ *AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM* ФОРМАЛЬДЕГИДОМ И ТИОМЕРСАЛОМ

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

Представлены результаты по отработке режимов инактивации штамма *Avibacterium paragallinarum* формальдегидом и тиомерсалом. Гибель бактерий при воздействии 0,20 и 0,10% формалина идет с постоянной скоростью, то есть процессы инактивации микроорганизмов подчиняются экспоненциальной зависимости. Данное обстоятельство позволяет рассчитать показатель константы скорости инактивации, который составляет для 0,10% формалина $2,94 \pm 0,37 \text{ ч}^{-1}$, а для 0,20% — $5,86 \pm 0,72 \text{ ч}^{-1}$. Режим инактивации формалином в конечной концентрации 0,10% при температуре 37 °C и постоянном перемешивании (60 об/мин) позволяет получать 7,0 дм³ бактерины с концентрацией $9,5 \pm 0,2 \text{ лг м.к./см}^3$ за 4,3 ± 0,1 ч. Тиомерсал обладает бактерицидным действием на клетки *Avibacterium paragallinarum* в концентрации 0,04% (1:2500) и выше. При этом процесс инактивации характеризуется линейностью, а константа скорости инактивации составляет $7,92 \pm 1,12 \text{ ч}^{-1}$. При действии тиомерсала в сублетальной концентрации 0,02% (1:5000) кривая выживания имеет сложную форму. При этом процесс гибели микроорганизмов не подчиняется экспоненциальной зависимости, а значение скорости инактивации, постоянно снижаясь, стремится к нулю, в связи с чем расчет показателя константы скорости инактивации невозможен. Режим инактивации с использованием 0,04% тиомерсала при температуре 37 °C позволяет получать 7,0 дм³ бактерины с концентрацией $9,5 \pm 0,2 \text{ лг м.к./см}^3$ за 5,8 ± 0,1 ч. Гемагглютинирующая активность антигена, инактивированного тиомерсалом, сразу после приготовления была выше, чем инактивированного формалином ($P < 0,05$). Однако через 10 мес. хранения активность антигена, инактивированного тиомерсалом, снизилась на $3,1 \log_2$ ($P < 0,05$), а инактивированного формалином — на $0,4 \log_2$ ($P > 0,05$). Приготовленный с помощью формалина антиген сохраняет высокую гемагглютинирующую активность в процессе хранения, что необходимо для изготовления качественных вакцин.

Ключевые слова: инфекционный ринит (гемофилез) кур, штамм, инактивация, формалин, тиомерсал, антиген, *Avibacterium paragallinarum*.

UDC 619:579.843.94:614.48:615.371

SPECIFIC ASPECTS OF *AVIBACTERIUM PARAGALLINARUM* INACTIVATION WITH FORMALDEHYDE AND THIOMERSAL

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

The paper demonstrates results of testing different modes of *Avibacterium paragallinarum* inactivation with formaldehyde and thiomersal. The bacterium destruction by 0.20% and 0.10% formaldehyde proceeds at the constant rate thus indicating exponential dependence of the microorganism inactivation processes. This fact allows for calculation of the inactivation rate constant that amounts to $2.94 \pm 0.37 \text{ h}^{-1}$ for 0.10% formaldehyde and $5.86 \pm 0.72 \text{ h}^{-1}$ for 0.20% formaldehyde. Inactivation using formaldehyde at final concentration of 0.10% at 37 °C and continuous stirring (60 rpm) produces 7.0 dm³ of bacterin at concentration of $9.5 \pm 0.2 \text{ lg microbial cells (mc)/cm}^3$ in $4.3 \pm 0.1 \text{ h}$. Thiomersal demonstrated bactericidal action against *Avibacterium paragallinarum* at concentration of 0.04% (1:2500) or higher. Herewith, inactivation process is specified by linearity and the inactivation rate constant amounts to $7.92 \pm 1.12 \text{ h}^{-1}$. Under thiomersal sublethal concentration of 0.2% (1:5000) the survival curve is of irregular shape. However, the process of the microorganism death is not exponential, and under continuous decrease, the inactivation rate is going to zero thus making impossible the calculation of the inactivation rate constant. Inactivation mode involving use of 0.04% thiomersal at 37 °C allows production of 7.0 dm³ of bacterin at $9.5 \pm 0.2 \text{ lg mc/cm}^3$ concentration in $5.8 \pm 0.1 \text{ h}$. Right after production, the hemagglutination activity of the thiomersal inactivated antigen was higher as compared to formaldehyde inactivated antigen ($P < 0.05$). However, after 10-month storage the activity of the thiomersal inactivated antigen decreased by $3.1 \log_2$ ($P < 0.05$), and of the formaldehyde inactivated antigen — by $0.4 \log_2$ ($P > 0.05$). The antigen produced using formaldehyde maintains high hemagglutination activity during storage that is critical for high quality vaccine production.

Key words: infectious coryza (Haemophilus infection), strain, inactivation, formaldehyde, thiomersal, antigen, *Avibacterium paragallinarum*.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из основных причин снижения экономических показателей на птицефабриках промышленного типа являются респираторные заболевания. По происхождению и клинико-морфологическому проявлению они весьма разнообразны [12].

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 [3, 5, 14].

Для специфической профилактики инфекционного ринита кур в основном используют инаktivированные вакцины благодаря их существенным преимуществам перед живыми. Прежде всего, следует отметить их высокую безопасность и безвредность, возможность стандартизации, дозированного введения специфического антигена, стабильность основных биологических свойств, возможность создания системного напряженного и продолжительного иммунологического эффекта, возможность успешного применения в поливалентном или ассоциированном вариантах [1, 2, 8].

Для изготовления инаktivированных вакцин используют вирулентные штаммы *Avibacterium paragallinarum*. Важным условием получения качественного бактериального антигена является выбор инаktivанта и оптимальных условий инаktivации, позволяющих полностью лишить возбудителя инфекционной активности при максимальном сохранении антигенности. Процесс инаktivации в значительной степени зависит от условий проведения реакции, чистоты бактериосодержащей суспензии, концентрации и вида инаktivировающего вещества [1, 2, 5, 6]. Без изучения процессов инаktivации бактерий невозможно получить качественный антиген со стабильными иммунобиологическими свойствами.

Среди исследователей, занимающихся разработкой и изготовлением вакцин против инфекционного ринита кур, нет единого мнения по поводу влияния на возбудителя различных химических инаktivантов. В ряде работ показано, что инаktivированные тиомерсалом антигены *A. paragallinarum* превосходят по активности формолантигены [7, 8, 11]. При этом отмечается, что формалин не является идеальным инаktivантом, так как, реагируя с аминокислотами, он денатурирует белки. Приготовленные на основе квасцов, геля гидрооксида алюминия и минеральной масла формолвакцины уступали по иммуногенности аналогичным препаратам, инаktivированным тиомерсалом [7, 11]. На практике тиомерсал обычно используется для консервации иммунобиологических препаратов в концентрации 0,01–0,02% (0,1–0,2 мг/см³). Цитотоксическое действие тиомерсала основывается на взаимодействии и блокировании SH-групп белков клеточной мембраны и ферментов. Результатом инаktivации поверхностных ферментов является бактериостатическое действие, а инаktivации ферментов внутри клетки – бактерицидное действие [8, 11].

По другим сообщениям, с помощью формалина также возможно получить бактериальный антиген с высокими иммуногенными свойствами [10, 13]. Основное воздействие формальдегида распространяется на полинуклеотиды и аминокислоты белка. Реакции

формальдегида с белками и нуклеиновой кислотой приводят к образованию стабильных межмолекулярных поперечных связей между аминокислотами и основанием одной или двух нуклеиновых кислот. Этот механизм сопровождается первичными повреждениями, деспирализацией и инаktivацией нуклеиновых кислот, существенными конформационными изменениями полипептидной цепи, а также стабилизацией макроструктуры биополимеров. Кроме того, повреждающее действие формальдегида направлено на оболочку бактерий, мембрану цитоплазмы, а также на внутриклеточные ферменты. Формалин в концентрации 0,1% (по объему) убивает вегетативные клетки бактерий семейства *Pasteurellaceae* за несколько часов. При меньших концентрациях он оказывает бактериостатическое действие, которое обратимо при добавлении сульфата натрия. Одновременно ингибируются токсичность и стабилизируются антигенные и иммуногенные свойства биополимеров, это свойство лежит в основе производства иммунобиологических препаратов. Полученные с помощью формалина препараты, как правило, безвредны, сохраняют высокую антигенность, иммуногенность и стабильность при длительном хранении [4, 9, 11].

Целью данных исследований был подбор инаktivанта и отработка режима инаktivации бактерий *A. paragallinarum*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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

Культивирование *A. paragallinarum* проводили глубинным способом в лабораторном биореакторе Biotron LiFlus GX с рабочим объемом 7,0 дм³ в течение 12 ч при температуре 37 °С. В качестве питательной среды использовали соево-казеиновый бульон (СКБ) на основе энзиматического гидролизата казеина и сои фирмы Sigma с добавлением 20 мкг/мл НАД (AppliChem) и 5% сыворотки крови лошади производства «Микроген».

Бульонную культуру штамма *A. paragallinarum*, взятую в конце экспоненциальной – начале стационарной фазы роста, с концентрацией $9,5 \pm 0,2$ lg КОЕ/см³ в объеме 100 см³ переносили в конические колбы и помещали в шейкер-инкубатор Biosan ES20. Процесс инаktivации осуществляли при температуре 37 °С и перемешивании 60 об/мин.

Для инаktivации бактерий использовали 36%-й водный раствор формальдегида (формалин) производства «Метафракс» и тиомерсал, содержащий 46% ртути фирмы Ferak Berlin (Германия).

Концентрацию живых микробных клеток в суспензии определяли путем посева десятикратных разведений культуры на плотную питательную среду по традиционной методике.

Расчет параметров инаktivации производили по формуле [5]:

$$e^{-kt} = X_t/X_0$$

где k – константа скорости инаktivации (ч⁻¹);

t – время инаktivации (ч);

X_0 – исходная концентрация микробных клеток (lg КОЕ/см³);

X_t – остаточное количество микробных клеток (lg КОЕ/см³).

Определение гемагглютинирующей активности антигенов проводили в реакции гемагглютинации (РГА), используя двукратные разведения от 1:50 до 1:3200 по традиционной методике. Реакцию учитывали визуально и оценивали в крестах. За титр антигена принимали наибольшее его разведение, дающее четко выраженную агглютинацию эритроцитов (+++ или ++++). Одновременно проводили тестирование на отсутствие спонтанной агглютинации эритроцитов (отрицательный контроль). Статистическую достоверность различия гемагглютинирующей активности антигенов определяли с вероятностью 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для отработки режима инаktivации бактерий *A. paragallinarum* формалином необходимо было сначала изучить выживаемость культуры данного микроорганизма при воздействии различных концентраций указанного инаktivирующего агента.

Для изучения процесса инаktivации в бульонные культуры вносили формалин в количестве 0,05%, 0,10% и 0,20% по объему. Концентрацию живых микробных клеток определяли перед внесением инаktivанта (X_0) и после, через каждые 60 мин (X_t) (см. рис. 1).

На рисунке 1 отображены графики инаktivации бактерий *A. paragallinarum* при действии формалина различных концентраций, а также естественной фазы отмирания (ФО).

Данные проведенных исследований свидетельствуют о том, что гибель бактерий *A. paragallinarum* при воздействии формалина в концентрациях 0,20 и 0,10% идет с постоянной скоростью, то есть процессы инаktivации микроорганизмов подчиняются экспоненциальной зависимости. Данное обстоятельство позволило нам рассчитать показатель константы скорости инаktivации (k), который составил для 0,10% формалина $k = 2,94 \pm 0,37 \text{ ч}^{-1}$, а для 0,20% – $k = 5,86 \pm 0,72 \text{ ч}^{-1}$.

Анализ данных значений k показал прямую зависимость скорости гибели микроорганизмов от концентрации инаktivирующего агента. При этом увеличение количества используемого инаktivанта в два раза повышало значение показателя k и, соответственно, сокращало время инаktivации культуры в аналогичное количество раз. В этом случае можно говорить о том, что процесс инаktivации бактерий *A. paragallinarum* формалином является полностью прогнозируемым процессом. В то же время график инаktivации бактерий формалином в концентрации 0,05% был не линейным.

Таким образом, руководствуясь принципом щадящей инаktivации и учитывая тот факт, что при использовании предельно низких концентраций формалина процессы инаktivации бактерий могут быть не линейны, мы определили 0,10% формалина как оптимальную концентрацию для инаktivации бактерий данного вида.

Поскольку всегда существует вероятность выживания хотя бы одного микроорганизма в единице объема инаktivируемой суспензии, следующим этапом работы было определение времени инаktivации (t).

По завершении процесса культивирования в бульонную суспензию штамма *A. paragallinarum* № 5111 в объеме 7,0 л добавляли формалин из расчета 0,10% по объему.

При расчете показателя t также учитывали допустимый уровень остаточного вирулентного материала

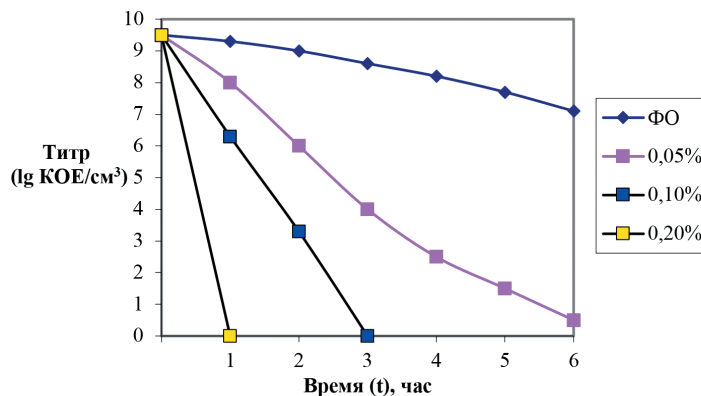


Рис. 1. Кинетика инаktivации культуры *A. paragallinarum* формалином, $n = 3$

в бульонной культуре, зависящий от ее объема. Поскольку рабочий объем инаktivируемой суспензии был равен 7,0 дм³, количество выживших бактерий не должно было превышать $-3,84 \text{ lg KOE/см}^3$.

На рисунке 2 отображен график инаktivации бактерий *A. paragallinarum* при воздействии 0,10% формалина с учетом константы скорости инаktivации и допустимого уровня остаточного вирулентного материала.

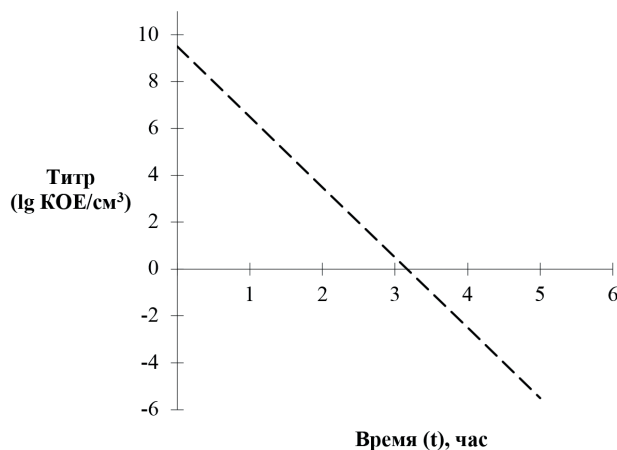
Данные расчета времени инаktivации показали, что использование указанного количества формалина обеспечивало гибель бактерий до $-3,84 \text{ lg KOE/см}^3$ в течение $4,3 \pm 0,1 \text{ ч}$.

Таким образом, отработанный режим инаktivации *A. paragallinarum* – 0,10% формалина при температуре 37 °С и постоянном перемешивании (60 об/мин) – позволяет получать 7,0 л бактериона с концентрацией $9,5 \pm 0,2 \text{ lg м.к./см}^3$ за $4,3 \pm 0,1 \text{ ч}$.

Следующим этапом исследования была отработка режима инаktivации *A. paragallinarum* тиомерсалом с изучением кинетики процесса. С этой целью бульонную суспензию бактерий, взятую в конце экспоненциальной – начале стационарной фазы роста, подвергали воздействию различных концентраций раствора тиомерсала – 0,02, 0,04 и 0,08%.

На рисунке 3 отображены графики инаktivации бактерий при воздействии различных концентраций тиомерсала.

Рис. 2. Инаktivация бактерий *A. paragallinarum* формалином в конечной концентрации 0,10%, $n = 3$



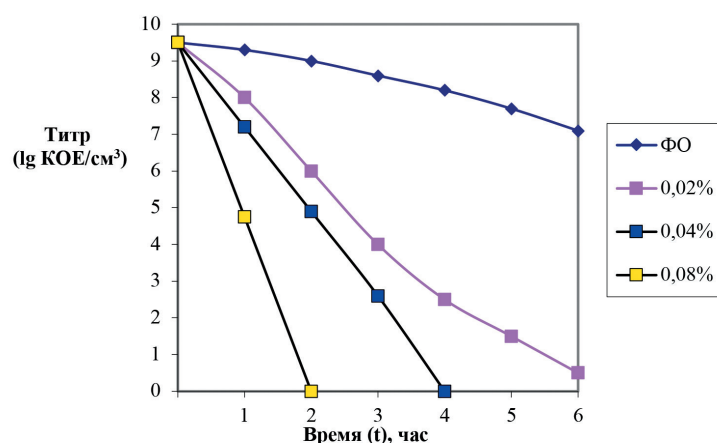


Рис. 3. Кинетика инактивации бактерий *A. paragallinarum* тиомерсалом, $n = 3$

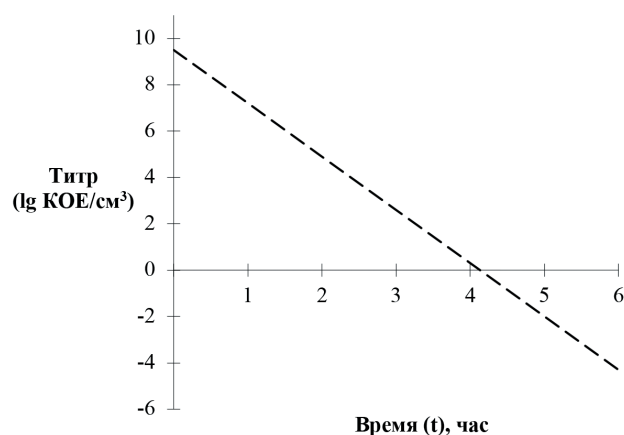


Рис. 4. Инактивация бактерий *A. paragallinarum* тиомерсалом в конечной концентрации 0,04%, $n = 3$

В ходе проведенных исследований было установлено, что тиомерсал обладает бактерицидным действием на клетки *A. paragallinarum* в концентрации 0,04% (1:2500) и выше. При этом процесс инактивации характеризовался линейностью, что позволило рассчитать константу скорости инактивации $k = 7,92 \pm 1,12 \text{ ч}^{-1}$. При действии инактиванта в сублетальной концентрации 0,02% (1:5000) график выживания имел сложную форму и включал начальный участок быстрой и последующий участок медленной инактивации. При этом процесс гибели микроорганизмов не подчинялся экспоненциальной зависимости, а значение скорости инактивации, постоянно снижаясь, стремилось к нулю, в связи с чем расчет показателя k представлялся невозможным.

В дальнейших исследованиях для инактивации бактерий *A. paragallinarum* использовали тиомерсал в концентрации 0,04%.

На очередном этапе работы определяли продолжительность инактивации микроорганизмов в рабочем объеме 7,0 л. Процесс инактивации проводили в стандартных условиях – при температуре 37 °C и постоянном перемешивании со скоростью 60 об/мин.

На рисунке 4 представлен график инактивации бактерий *A. paragallinarum* при воздействии 0,04% тиомерсала с учетом константы скорости инактивации и допустимого уровня остаточного вирулентного материала.

Данные расчета времени инактивации показали, что использование указанного количества тиомерсала обеспечивало гибель бактерий до $-3,84 \text{ lg КОЕ/см}^3$ в течение $5,8 \pm 0,1 \text{ ч}$.

Таким образом, отработанный режим инактивации с использованием 0,04% тиомерсала позволяет получать 7,0 дм³ бактериона с концентрацией $9,5 \pm 0,2 \text{ lg м.к./см}^3$ за $5,8 \pm 0,1 \text{ ч}$.

После инактивации клетки осаждали центрифугированием при 3000 g в течение 20 мин при 4 °C, а осадок ресуспендировали в фосфатно-буферном растворе с pH 7,2 до концентрации 100 ед. ($10^{10} \text{ м.к./см}^3$) по оптическому стандарту мутности. Полученные антигены хранили при температуре +4 °C в течение 10 мес. (срок наблюдения).

Завершающим этапом работы было определение гемагглютинирующей активности антигенов *A. paragallinarum* после инактивации различными агентами (табл.).

Гемагглютинирующая активность антигена, инактивированного тиомерсалом, сразу после приготовления была выше, чем инактивированного формалином ($P < 0,05$). Однако через 10 мес. хранения активность антигена, инактивированного тиомерсалом, снизилась на $3,1 \log_2$ ($P < 0,05$), а инактивированного формалином – на $0,4 \log_2$ ($P > 0,05$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что формалин в конечной концентрации 0,10% при температуре 37 °C обеспечивает полную инактивацию бульонной культуры штамма *A. paragallinarum* за $4,3 \pm 0,1 \text{ ч}$. Тиомерсал в концентрации 0,04% при температуре 37 °C также обеспечивал полную инактивацию бактерий за $5,8 \pm 0,1 \text{ ч}$.

Для инактивации вирулентных штаммов бактерии *Avibacterium paragallinarum* целесообразно использовать формалин, так как при его воздействии антиген сохраняет высокую гемагглютинирующую активность в течение 10 мес. (срок наблюдения), тем самым позволяет получать качественное сырье для изготовления инактивированных вакцин.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Таблица

Гемагглютинирующая активность антигенов *A. paragallinarum* в РТА после инактивации различными агентами

Инактиватор	Концентрация, %	Титр антигена ($\log_2$) после хранения, мес.					
		0	2	4	6	8	10
Формалин	0,10	$7,2 \pm 0,2$	$7,3 \pm 0,2$	$7,2 \pm 0,2$	$7,0 \pm 0,2$	$6,8 \pm 0,1$	$6,8 \pm 0,1$
Тиомерсал	0,04	$8,4 \pm 0,1$	$8,2 \pm 0,1$	$7,4 \pm 0,1$	$6,4 \pm 0,1$	$5,8 \pm 0,2$	$5,2 \pm 0,2$

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биотехнология / И. В. Тихонов, Е. А. Рубан, Т. Н. Грязнева [и др.]; под ред. Е. С. Воронина. – СПб.: ГИОРД, 2005. – С. 241–268.
2. Борисова И. А. Разработка технологии изготовления и контроля инактивированной вакцины против ньюкаслской болезни и метапневмовирусной инфекции птиц: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Владимир, 2008. – 25 с.
3. Гемофилез птиц / Т. Н. Рождественская, Е. В. Кононенко, С. А. Емельянова [и др.] // Ветеринарная медицина. – 2016. – № 4. – С. 50–53.
4. Калашников Н. В. Особенности поражения бактерий формальдегидом // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 1986. – № 6. – С. 35–41.
5. Мейнелл Дж., Мейнелл Э. Экспериментальная микробиология / пер. с англ. Л. Б. Меклера. – М.: Мир, 1967. – 347 с.
6. Сергеев В. А., Непоклонов Е. А., Алипер Т. И. Вирусы и вирусные вакцины. – М.: Библионика, 2007. – С. 206–223.
7. Blackall P. J., Reid G. G. Further efficacy studies on inactivated, aluminum-hydroxide-adsorbed vaccines against infectious coryza // *Avian Dis.* – 1987. – Vol. 31. – P. 527–532; PMID: 2960312.
8. Blackall P. J. Vaccines against infectious coryza // *World's Poult. Sci. J.* – 1995. – Vol. 51 (1). – P. 17–26; DOI: 10.1079/WPS19950003.
9. Brown F. Review of accidents caused by incomplete inactivation of viruses // *Dev. Biol. Stand.* – 1993. – Vol. 81. – P. 103–107; PMID 8174792.
10. Coetzee L., Strydom G. S., Rogers E. J. The value of oil-adjuvant vaccines in the control of *Haemophilus paragallinarum* infection (infectious coryza) in egg producing birds in South Africa // *Dev. Biol. Stand.* – 1982. – Vol. 51. – P. 169–180.
11. Davis R. B., Rimler R. B., Shotts E. B. Efficacy studies on *Haemophilus gallinarum* bacterin preparations // *Am. J. Vet. Res.* – 1976. – Vol. 37. – P. 219–222; PMID: 1259216.
12. Mortality, disease and associated antimicrobial use in commercial small-scale chicken flocks in the Mekong Delta of Vietnam / J. Carrique-Mas, N. T. B. Van, N. V. Cuong [et al.] // *Prev. Vet. Med.* – 2019. – Vol. 165. – P. 15–22; DOI: 10.1016/j.prevetmed.2019.02.005.
13. Rimler R. B., Shotts E. B., Davis R. B. A growth medium for the production of a bacterin for immunization against infectious coryza // *Avian Dis.* – 1975. – Vol. 19. – P. 318–322; PMID: 1156259.
14. Selection of *Avibacterium paragallinarum* Page serovar B strains for an infectious coryza vaccine / H. Sun, S. Xie, X. Li [et al.] // *Vet. Immunol. Immunopathol.* – 2018. – Vol. 199. – P. 77–80; DOI: 10.1016/j.vetimm.2018.04.001.
2. Borisova I. A. Development of manufacturing and control technology of inactivated vaccine against Newcastle diseases and avian metapneumovirus infection [Razrabotka tekhnologii izgotovleniya i kontrolya inaktivirovannoj vakciny protiv n'yukaslskoj bolezni i metapnevmo-virusnoj infekcii ptic]: author's abstract Thesis of Candidate of Science (Biology). Vladimir, 2008 (in Russian).
3. Haemophilus infection in birds [Gemofilez ptic]. T. N. Rozhdestvenskaya, Ye. V. Kononenko, S. A. Yemelyanova [et al.]. *Veterinarnaya Medicina*. 2016; 4: 50–53 (in Russian).
4. Kalashnikov N. V. Specifics of formaldehyde effect on bacteria [Osobennosti porazheniya bakterij formal'degidom]. *Molekularnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*. 1986; 6: 35–41 (in Russian).
5. Meynell G., Meynell E. Theory and Practice in Experimental Bacteriology [Eksperimental'naya mikrobiologiya]; translated from English by L. B. Mekler. M.: Mir, 1967 (in Russian).
6. Sergeyev V. A., Nepoklonov Ye. A., Aliper T. I. Viruses and Virus Vaccines [Virusy i virusnye vakciny]. M.: Biblionika, 2007 (in Russian).
7. Blackall P. J., Reid G. G. Further efficacy studies on inactivated, aluminum-hydroxide-adsorbed vaccines against infectious coryza. *Avian Dis.* 1987; 31: 527–532; PMID: 2960312.
8. Blackall P. J. Vaccines against infectious coryza. *World's Poult. Sci. J.* 1995; 51 (1): 17–26; DOI: 10.1079/WPS19950003.
9. Brown F. Review of accidents caused by incomplete inactivation of viruses. *Dev. Biol. Stand.* 1993; 81: 103–107; PMID 8174792.
10. Coetzee L., Strydom G. S., Rogers E. J. The value of oil-adjuvant vaccines in the control of *Haemophilus paragallinarum* infection (infectious coryza) in egg producing birds in South Africa. *Dev. Biol. Stand.* 1982; 51: 169–180.
11. Davis R. B., Rimler R. B., Shotts E. B. Efficacy studies on *Haemophilus gallinarum* bacterin preparations. *Am. J. Vet. Res.* 1976; 37: 219–222; PMID: 1259216.
12. Mortality, disease and associated antimicrobial use in commercial small-scale chicken flocks in the Mekong Delta of Vietnam. J. Carrique-Mas, N. T. B. Van, N. V. Cuong [et al.]. *Prev. Vet. Med.* 2019; 165: 15–22; DOI: 10.1016/j.prevetmed.2019.02.005.
13. Rimler R. B., Shotts E. B., Davis R. B. A growth medium for the production of a bacterin for immunization against infectious coryza. *Avian Dis.* 1975; 19: 318–322; PMID: 1156259.
14. Selection of *Avibacterium paragallinarum* Page serovar B strains for an infectious coryza vaccine. H. Sun, S. Xie, X. Li [et al.]. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2018; 199: 77–80; DOI: 10.1016/j.vetimm.2018.04.001.

REFERENCES

1. Biotechnology [Biotehnologiya]. I. V. Tikhonov, Ye. A. Ruban, T. N. Gryazneva [et al.]; ed. by Ye. S. Voronina. SPb.: GIORД, 2005 (in Russian).

Поступила 28.05.2019
Принята в печать 19.08.2019



Продовольственная и сельскохозяйственная
организация ООН (ФАО)

ПРЕСС-РЕЛИЗ

ГЕНЕРАЛЬНЫЙ ДИРЕКТОР ФАО ГРАЦИАНУ ДА СИЛВА ПЕРЕДАЕТ ПОЛНОМОЧИЯ ЦЮЙ ДУНЬЮЮ

В ХОДЕ ЦЕРЕМОНИИ БЫЛА ПОДЧЕРКНУТА ИНСТИТУЦИОНАЛЬНАЯ СИЛА
И ПРЕЕМСТВЕННОСТЬ РУКОВОДСТВА ФАО

31 июля 2019 г., Рим

«Программы социальной защиты и государственная политика имеют основополагающее значение для борьбы с голодом, а качество нашего продовольствия должно быть улучшено», – сказал Генеральный директор ФАО Жозе Грациану да Силва на церемонии передачи полномочий в последний день своего пребывания у руля Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН.

Представитель Китая Цюй Дунъюй вступил в должность 1 августа 2019 года. Его пребывание на посту руководителя организации продлится до 31 июля 2023 года.

Грациану да Силва акцентировал внимание на том, что главная задача ФАО, особенно на местах, – улучшение «условий жизни уязвимых людей» посредством предоставления им новых технических возможностей, в первую очередь это касается развивающихся стран, также он отметил нормотворческую деятельность, которую проводит учреждение, членами которого являются 194 государства.

«У меня нет сомнений в том, что д-р Цюй со своим опытом и знаниями сможет много сделать на посту руководителя ФАО», – сказал он.

Цюй Дунъюй поблагодарил Грациану да Силву за процесс плавного перехода, который он назвал новой культурой ФАО. Он также выразил глубокое уважение работе Грациану да Силвы в ФАО. Цюй Дунъюй сказал: «Я намерен продолжать курс ФАО по применению современной науки и технологий и внедрению инновационных подходов. Моя цель состоит в том, чтобы сделать организацию более динамичной, прозрачной и инклюзивной в течение следующих четырех лет».



Цюй Дунъюй и Жозе Грациану да Силва на церемонии передачи полномочий

Цюй Дунъюй также подчеркнул необходимость построения диалога, укрепления доверия, повышения эффективности и сосредоточения внимания на отчетности.

Цюй Дунъюй был избран Генеральным директором Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН 23 июня 2019 года. Он стал девятым по счету Генеральным директором ФАО с момента основания организации 16 октября 1945 года. Его полную биографию можно посмотреть по ссылке: www.fao.org/fileadmin/user_upload/bodies/Conference_2019/MZ073_7/MZ073_C_2019_7_en.pdf (стр. 15).

Ссылка на оригинальный текст:

www.fao.org/news/story/ru/item/1203725/icode/.

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

**ОСНОВНЫМИ НАПРАВЛЕНИЯМИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ
ЦЕНТРА В ОБЛАСТИ БОРЬБЫ С БОЛЕЗНЯМИ
СВИНЕЙ ЯВЛЯЮТСЯ:**

– разработка и внедрение в ветеринарную практику высокоэффективных лечебно-профилактических и диагностических препаратов.

ФГБУ «ВНИИЗЖ»

ПРОИЗВОДИТ ВАКЦИНЫ:

– против инфекционных болезней свиней: пастереллеза, сальмонеллеза, гемофильного полисерозита, актинобациллезной плевропневмонии, репродуктивно-респираторного синдрома, парвовирусной инфекции, болезни Ауески и трансмиссивного гастроэнтерита;
– против ящура всех типов.

ПРОВОДИТ ДИАГНОСТИКУ:

– диагностические исследования на ящур всех типов;
– диагностические исследования на наличие вируса АЧС и КЧС;
– выделение вируса болезни Ауески в культуре клеток;
– обнаружение респираторных болезней свиней;
– исследования на наличие коронавируса свиней;
– мониторинговые и скрининговые исследования инфекционных болезней свиней;

– дифференциальную диагностику желудочно-кишечных болезней;
– дифференциальную диагностику болезней свиней, протекающих с поражением центральной нервной системы.

**По вопросам проведения исследований
обращаться по телефону:
8 (4922) 26-15-25 (доб. 2135)**

Важным аспектом деятельности ФГБУ «ВНИИЗЖ» является оказание научно-методической и практической помощи ветеринарным специалистам лабораторий и животноводческих предприятий, разработка мероприятий для профилактики и ликвидации инфекционных болезней свиней. Ученые Центра ведут научное сопровождение продукции ФГБУ «ВНИИЗЖ» и непрерывную консультативную деятельность в хозяйствах. Учреждение осуществляет подготовку научных кадров – аспирантов и соискателей, обучение специалистов, стажеров и практикантов, а также проводит курсы повышения квалификации и вебинары по вопросам диагностики, профилактики и мер борьбы с инфекционными болезнями животных.

**По вопросам приобретения
ветеринарных препаратов
производства ФГБУ «ВНИИЗЖ»
обращаться по телефонам:
8 (4922) 26-15-12, (4922) 26-15-25**