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

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

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

РУССКО-АНГЛИЙСКИЙ ЖУРНАЛ

VETERINARY SCIENCE TODAY

RUSSIAN-ENGLISH JOURNAL

Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни в Российской Федерации в 2019 году
с. 76

Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2019
p. 76

Результаты научной экспедиции в природные биотопы Республики Тыва в 2019 году для проведения мониторинга инфекционных болезней в популяциях диких птиц
с. 83

Results of scientific expedition to natural biotopes of the Republic of Tyva in 2019 with the purpose of infectious disease monitoring in wild bird populations
p. 83

Исследование биопленок и фенотипических признаков грибов рода *Candida*
с. 132

Studies of biofilms and phenotypic characteristics of *Candida* fungi
p. 132

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).

ИЮНЬ | JUNE №2 {33} 2020

Ветеринария сегодня №2 (33) 2020 научный журнал

Veterinary Science Today №2 (33) 2020 Scientific Journal

Издается с 2012 года, выходит 4 раза в год

Published 4 times a year since 2012

Главный редактор: Лозовой Дмитрий Анатольевич, доктор ветеринарных наук, доцент, заместитель директора по НИР и развитию ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, *e-mail: lozovoy@arriah.ru*; ORCID ID 0000-0002-5983-7062
тел./факс: 8(4922)26-38-77

Шеф-редактор: Юлия Мелано, советник Руководителя Федеральной службы по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор), г. Москва, Россия, *e-mail: j.melano@ya.ru*

Выпускающие редакторы:
Татьяна Никешина, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, *e-mail: nikeshina@arriah.ru*; ORCID ID 0000-0002-0959-5915; Тел: 8(4922)26-15-12, доб. 22-27
Анастасия Мазнева, ООО «Да Винчи Медиа», г. Москва, Россия, *e-mail: a.v.mazneva@gmail.com*

Editor-in-Chief: Dmitry A. Lozovoy, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Deputy Director for Research and Development, FGBI «ARRIAH», Vladimir, Russia, *e-mail: lozovoy@arriah.ru*; ORCID ID 0000-0002-5983-7062
Tel/fax: 8(4922)26-38-77

Editorial Director: Julia Melano, Advisor to the Head of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoznadzor), Moscow, Russia, *e-mail: j.melano@ya.ru*

Executive Editors:
Tatiana Nikeshina, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, *e-mail: nikeshina@arriah.ru*; ORCID ID 0000-0002-0959-5915; Tel: 8 (4922) 26-15-12, ext. 22-27
Anastasia Mazneva, LLC «Da Vinci Media», Moscow, Russia, *e-mail: a.v.mazneva@gmail.com*

Редакционный совет журнала «Ветеринария сегодня»:

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

Бучацкий Л. П. – доктор биологических наук, профессор, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев, Украина

Глотов А. Г. – доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБНУ «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий» РАН, г. Новосибирск, Россия; ORCID ID 0000-0002-2006-0196

Гринь С. А. – доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», г. Щелково, Россия

Забережный А. Д. – доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко РАН», г. Москва, Россия; ORCID ID 0000-0001-7635-2596

Кузьминова Е. В. – доктор ветеринарных наук, Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт – обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», г. Краснодар, Россия; ORCID ID 0000-0003-4744-0823

Ломако Ю. В. – кандидат ветеринарных наук, доцент, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского», г. Минск, Беларусь; ORCID ID 0000-0002-9611-8286

Мищенко Н. В. – доктор биологических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет им. А. Г. и Н. Г. Столетовых», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-3643-3129

Настасиевич Иван – доктор ветеринарных наук, Институт гигиены и технологии мяса, г. Белград, Сербия; ORCID ID 0000-0002-7141-269X

Недосеков В. В. – доктор ветеринарных наук, профессор, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина; ORCID ID 0000-0001-7581-7478

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

Савченкова И. П. – доктор биологических наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко», г. Москва, Россия; ORCID ID 0000-0003-3560-5045

Самарджия Марко – доктор ветеринарных наук, профессор, факультет ветеринарной медицины, Загребский университет, г. Загреб, Хорватия; ORCID ID 0000-0003-0402-3173

Сидорчук А. А. – доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К. И. Скрябина», г. Москва, Россия

Соколович Марьяна – доктор ветеринарных наук, Хорватский ветеринарный институт, Центр птицеводства, г. Загреб, Хорватия; ORCID ID 0000-0003-3373-7415

Сулейманов С. М. – доктор ветеринарных наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I», г. Воронеж, Россия; ORCID ID 0000-0002-0461-9885

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

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

Editorial Council:

Boldbaatar Bazartseren – PhD/DVM, Institute of Veterinary Medicine, Ulan Bator, Mongolia

Leonid P. Buchatsky – Doctor of Science (Biology), Professor, Institute of Fisheries of the National Academy of Agrarian Sciences, Kyiv, Ukraine

Alexander G. Glotov – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Bio Technologies of the RAS, Novosibirsk, Russia; ORCID ID 0000-0002-2006-0196

Svetlana A. Grin – Doctor of Science (Biology), Professor, Corresponding Member of the RAS, FSBI "All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry", Schelkovo, Russia

Alexey D. Zaberezhny – Doctor of Science (Biology), Professor, FSBSI "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0001-7635-2596

Elena V. Kuzminova – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Krasnodar Research Veterinary Institute – Detached Unit FSBS "Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine", Krasnodar, Russia; ORCID ID 0000-0003-4744-0823

Yuri V. Lomako – Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Research Republican Unitary Enterprise the Institute of Experimental Veterinary Medicine n. a. S. N. Vyshelessky, Minsk, Belarus; ORCID ID 0000-0002-9611-8286

Natalia V. Mischenko – Doctor of Science (Biology), Associate Professor, Vladimir State University, Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-3643-3129

Ivan Nastasijevic – PhD/DVM, Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Serbia; ORCID ID 0000-0002-7141-269X

Vitaly V. Nedosekov – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine; ORCID ID 0000-0001-7581-7478

Ivan N. Nikitin – Doctor of Science (Veterinary Medicine), FSBEI HE "Kazan state academy of veterinary medicine n. a. N. E. Bauman", Kazan, Russia

Irina P. Savchenkova – Doctor of Science (Biology), Professor, FSBSI "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0003-3560-5045

Marko Samardžija – PhD/DVM, Full Professor, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zagreb, Zagreb, Croatia; ORCID ID 0000-0003-0402-3173

Alexander A. Sidorchuk – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA n. a. K. I. Skryabin", Moscow, Russia

Marijana Sokolovic – PhD/DVM, Croatian Veterinary Institute, Poultry Centre, Zagreb, Croatia; ORCID ID 0000-0003-3373-7415

Suleiman M. Suleymanov – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Honorary Scientist of the Russian Federation, Voronezh State Agrarian University n. a. Emperor Peter the Great, Voronezh, Russia; ORCID ID 0000-0002-0461-9885

Sergei V. Fedotov – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA n. a. K. I. Skryabin", Moscow, Russia

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

Дизайн и верстка: Мария Бондарь
Ответственный секретарь: Елена Гусева
Корректор: Ирина Зверева
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.

Design and composition: Maria Bondar
Executive secretary: Elena Guseva
Proof-reader: Irina Zvereva
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 РИНЦ, каталог журналов открытого доступа DOAJ, а также в список журналов, входящих в базу данных RSCI на платформе Web of Science, и международную базу данных EBSCO. Электронные версии журнала размещаются в полнотекстовом формате на сайте Научной электронной библиотеки (НЭБ) 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, Directory of Open Access Journals DOAJ, as well as in the Web of Science RSCI database and in the international database of EBSCO. 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.

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

Редакционная коллегия журнала «Ветеринария сегодня»:

Василевич Ф. И. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К. И. Скрябина», г. Москва, Россия; ORCID ID 0000-0003-0786-5317

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

Груздев К. Н. – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0003-3159-1969

Гулюкин М. И. – доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко», г. Москва, Россия; ORCID ID 0000-0002-7489-6175

Иголкин А. С. – кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-5438-8026

Ирза В. Н. – доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0001-7489-1772

Красочко П. А. – доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь; ORCID ID 0000-0002-4641-4757

Макаров В. В. – доктор биологических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия; ORCID ID 0000-0002-8464-6380

Метлин А. Е. – доктор ветеринарных наук, заместитель директора по науке ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов», г. Москва, Россия; ORCID ID 0000-0002-4283-0171

Мищенко В. А. – доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0003-3751-2168

Плющиков В. Г. – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, директор Аграрно-технологического института, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия

Прохватилова Л. Б. – кандидат биологических наук, доцент, начальник отдела координации НИР, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-9560-0724

Прунтова О. В. – доктор биологических наук, профессор, главный эксперт, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0003-3143-7339

Русалеев В. С. – доктор ветеринарных наук, профессор, ученый секретарь, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-4972-6326

Сисягин П. Н. – доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, Нижегородский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», г. Нижний Новгород, Россия; ORCID ID 0000-0003-1085-220X

Старов С. К. – кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник, заместитель директора по качеству (заместитель главного редактора), ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия

Субботин А. М. – доктор биологических наук, профессор, Заместитель Премьер-министра Республики Беларусь, г. Минск, Беларусь

Чвала И. А. – кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по НИР и мониторингу, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-1659-3256

Шахов А. Г. – доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии», г. Воронеж, Россия; ORCID ID 0000-0002-6177-8858

Шкуратова И. А. – доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения РАН», г. Екатеринбург, Россия; ORCID ID 0000-0003-0025-3545

Editorial Board:

Fyodor I. Vasilyevich – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA n. a. K. I. Skryabin", Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0003-0786-5317

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

Konstantin N. Gruzdev – Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0003-3159-1969

Mikhail I. Gulyukin – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Honorary Scientist of the Russian Federation, FSBSI "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0002-7489-6175

Alexey S. Igolkin – Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of the Reference Laboratory, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-5438-8026

Victor N. Irza – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Expert, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0001-7489-1772

Petr A. Krasochko – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Doctor of Science (Biology), Professor, EE "The Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine", Vitebsk, Belarus; ORCID ID 0000-0002-4641-4757

Vladimir V. Makarov – Doctor of Science (Biology), Professor, RUDN University, Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0002-8464-6380

Artyom Ye. Metlin – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Deputy Head for Research, FGBI "The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality", Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0002-4283-0171

Vladimir A. Mischenko – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0003-3751-2168

Vadim G. Plyuschikov – Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Director of Agrarian and Technological Institute, RUDN University, Moscow, Russia

Larisa B. Prokhvatilova – Candidate of Science (Biology), Associate Professor, Head of the Department for Research Coordination, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-9560-0724

Olga V. Pruntova – Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Expert, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0003-3143-7339

Vladimir S. Russaleyev – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Scientific Secretary, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-4972-6326

Pavel N. Sisyagin – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod Research Veterinary Institute – Branch of Federal Reseach Center for Virology and Microbiology, Nizhny Novgorod , Russia; ORCID ID 0000-0003-1085-220X

Sergey K. Starov – Candidate of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Deputy Director for Quality (Deputy Editor-in-Chief), FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia

Alexander M. Subbotin – Doctor of Science (Biology), Professor, Deputy Prime Minister of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

Ilya A. Chvala – Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research and Monitoring, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-1659-3256

Alexey G. Shakhov – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, SSI "All-Russian veterinary research institute of pathology, pharmacology and therapy", Voronezh, Russia; ORCID ID 0000-0002-6177-8858

Irina A. Shkuratova – Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Director, FSBSI "Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of RAS", Yekaterinburg, Russia; ORCID ID 0000-0003-0025-3545

Тираж 1150 экземпляров. Цена свободная
Подписной индекс агентства «Роспечать»: 80662
Подписной индекс агентства «Книга-Сервис»: 83862
Учредитель: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Издатель: ООО «Вейнард», 129626, г. Москва, Проспект Мира, д 102, стр. 31, комн. 12

Circulation: 1150. Price: unregulated
Subscription index ("Rospechat" agency): 80662
Subscription index ("Kniga-Service" agency): 83862
Establisher: 600901, Vladimir, Yur'evets, FGBI "ARRIAH"
Publisher: OOO "Veinard", 129626, Moscow, 102 Prospect Mira, bld. 31, office 12

Адрес редакции: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Типография: ООО «ГРАН ПРИ», 152900, Ярославская область, г. Рыбинск, ул. Луговая, 7
Подписано в печать 10 июня 2020 года
Дата выхода в свет: 19.06.2020

Editorial Board Office: 600901, Vladimir, Yur'evets, FGBI "ARRIAH"
Printing Office: OOO "Grand Prix", 152900, Yaroslaval Oblast, Rybinsk, Lugovaya str., 7
Approved for print 10 june 2020
Issued: 19.06.2020

16+

«ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ»
НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)
2020, №2 (33)

“VETERINARY SCIENCE TODAY”
SCIENTIFIC JOURNAL
FGBI “Federal Centre for Animal Health” (FGBI "ARRIAH")
2020, №2 (33)

СОДЕРЖАНИЕ

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

76 Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни в Российской Федерации в 2019 году
М. А. Волкова, Ир. А. Чвала, О. С. Осипова, М. А. Кулагина, Д. Б. Андрейчук, И. А. Чвала

83 Результаты научной экспедиции в природные биотопы Республики Тыва в 2019 году для проведения мониторинга инфекционных болезней в популяциях диких птиц
М. С. Волков, В. Н. Ирза, А. В. Варкентин, С. В. Роголев, А. В. Андриясов

89 Мониторинг микоплазмозов птиц в Российской Федерации в 2019 году
А. Э. Меньщикова, Т. Н. Брундакова, М. С. Волков, В. Н. Ирза

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ЯЩУР

94 Изучение формирования раннего иммунитета у естественно восприимчивых животных против ящура типа О
Д. В. Михалишин, Д. А. Лозовой, В. А. Стариков, Ю. С. Елькина, М. И. Доронин, А. В. Борисов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

102 Распространение микоплазмозов крупного рогатого скота на животноводческих фермах в Российской Федерации в период с 2015 по 2018 год
Мохаммад Абед Алхуссен, А. А. Нестеров, В. В. Кирпиченко, С. П. Яцентюк, А. В. Спрыгин, О. П. Бьядовская, А. В. Кононов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

109 Разработка и применение тест-системы на основе непрямого жидкофазного блокирующего варианта ИФА для определения антигена вируса РРСС при технологическом контроле вакцинного сырья
Е. П. Баборенко, О. П. Бьядовская, Д. А. Бирюченков, А. В. Константинов, Р. В. Яшин

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ ВОДНЫХ ЖИВОТНЫХ

115 Нидовирусы, ассоциированные с водными животными
Л. П. Бучацкий, В. В. Макаров

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

122 Изучение клинических симптомов при панлейкопении у кошек на территории Донецкой Народной Республики
И. В. Бердюкова, П. А. Руденко

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПРИМАТОВ

127 *Agr*-типирование метициллин-чувствительных *Staphylococcus aureus* (MSSA), выделенных у низших приматов
В. А. Калашникова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

132 Исследование биопленок и фенотипических признаков грибов рода *Candida*
Е. М. Ленченко, Н. П. Сачивкина

139 Микотоксикологический мониторинг. Сообщение 2. Зерно пшеницы, ячменя, овса, кукурузы
Г. П. Кононенко, А. А. Буркин, Е. В. Зотова

РЕЦЕНЗИИ

146 Рецензия на монографию В. В. Макарова, Н. Я. Махамата, А. М. Гулюкина, М. И. Гулюкина «Сибирская язва: современное представление и мировое распространение». М.: Агентство творческих технологий, 2019. 145 с.: ил. ISBN 978-5-6042239-6-3

НЕКРОЛОГ

148 Памяти Бурдова Александра Николаевича

CONTENTS

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

76 Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2019
M. A. Volkova, Ir. A. Chvala, O. S. Osipova, M. A. Kulagina, D. B. Andreychuk, I. A. Chvala

83 Results of scientific expedition to natural biotopes of the Republic of Tyva in 2019 with the purpose of infectious disease monitoring in wild bird populations
M. S. Volkov, V. N. Irza, A. V. Varkentin, S. V. Rogolyov, A. V. Andriyasov

89 Avian mycoplasmosis monitoring in the Russian Federation in 2019
A. E. Menshchikova, T. N. Brundakova, M. S. Volkov, V. N. Irza

ORIGINAL ARTICLES | FOOT-AND-MOUTH DISEASE

94 Studies on development of early immunity against type O FMD in naturally susceptible animals
D. V. Mikhalishin, D. A. Lozovoy, V. A. Starikov, Yu. S. El'kina, M. I. Doronin, A. V. Borisov

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

102 Bovine mycoplasmosis occurrence on livestock farms in the Russian Federation for 2015–2018
Mohammad Abed Alhussen, A. A. Nesterov, V. V. Kirpichenko, S. P. Yatsentyuk, A. V. Sprygin, O. P. Byadovskaya, A. V. Kononov

ORIGINAL ARTICLES | PORCINE DISEASES

109 Development and use of indirect liquid-phase ELISA test system for detection of PRRS virus antigen during in-process control of raw materials intended for vaccine production
Ye. P. Baborenko, O. P. Byadovskaya, D. A. Biryuchenkov, A. V. Konstantinov, R. V. Yashin

REVIEWS | AQUATIC ANIMAL DISEASES

115 Nidoviruses associated with aquatic animals
L. P. Buchatsky, V. V. Makarov

ORIGINAL ARTICLES | DISEASES OF SMALL PETS

122 Studies of clinical symptoms of panleukopenia in cats in the Donetsk People's Republic
I. V. Berdyukova, P. A. Rudenko

ORIGINAL ARTICLES | PRIMATE DISEASES

127 *Agr*-typing of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) isolated from non-human primates
V. A. Kalashnikova

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

132 Studies of biofilms and phenotypic characteristics of *Candida* fungi
E. M. Lenchenko, N. P. Sachivkina

139 Mycotoxilogical monitoring. Part 2. Wheat, barley, oat and maize grain
G. P. Kononenko, A. A. Burkin, Ye. V. Zotova

PEER REVIEWS

146 Peer-review of monograph of V. V. Makarov, N. Ya. Makhamat, A. M. Gulyukin, M. I. Gulyukin “Anthrax: Modern Knowledge and Global Occurrence”. M.: Agentstvo tvorcheskikh tekhnologiy, 2019. 145 p.: il. ISBN 978-5-6042239-6-3

OBITUARY

148 In memory of Alexander N. Burdov

УДК 619:578.832.1:578.831.1:616-078
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-76-82

Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни в Российской Федерации в 2019 году

М. А. Волкова[1], Ир. А. Чвала[2], О. С. Осипова[3], М. А. Кулагина[4], Д. Б. Андрейчук[5], И. А. Чвала[6]
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия
[1] *ORCID 0000-0002-7674-639x, e-mail: volkovama@arriah.ru*
[2] *ORCID 0000-0001-5846-1262, e-mail: chvala_ia@arriah.ru*
[3] *ORCID 0000-0002-3176-157x, e-mail: osipova@arriah.ru*
[4] *ORCID 0000-0001-6959-3965, e-mail: kulagina@arriah.ru*
[5] *ORCID 0000-0002-1681-5795, e-mail: andreychuk@arriah.ru*
[6] *ORCID ID 0000-0002-1659-3256, e-mail: chvala@arriah.ru*

РЕЗЮМЕ
В рамках мониторинговых мероприятий, проводимых Россельхознадзором, в референтную лабораторию вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) в течение 2019 года было доставлено более 30 000 проб сыворотки крови от домашних, диких и синантропных птиц из 50 регионов Российской Федерации для исследования на грипп птиц и ньюкаслскую болезнь. В результате лабораторной диагностики антитела к вирусу гриппа типа А были выявлены у вакцинированных кур из двух птицеводческих предприятий Пермского и Приморского краев (A/H9). Выявленные антитела были специфичны вакцинному антигену по подтипу гемагглютинина. В личных подсобных хозяйствах граждан субъектов Российской Федерации, где проводится плановая вакцинопрофилактика гриппа птиц A/H5, установлен низкий уровень иммунитета в Ростовской и Астраханской областях (35 и 44% соответственно) и высокий уровень – в Республике Алтай, Краснодарском крае, Чеченской Республике и Приморском крае (69, 78, 80 и 88% соответственно). Высокая серопревалентность ньюкаслской болезни была установлена для взрослой птицы в промышленных хозяйствах закрытого типа, что связано с массовой вакцинацией против данного заболевания. У цыплят-бройлеров отмечали наличие поствакцинальных антител в среднем в 42% исследованных проб сыворотки крови. В 39% проб от кур из личных подсобных хозяйств были обнаружены антитела к вирусу ньюкаслской болезни. Серопревалентность у диких и синантропных птиц была высокой. Полученные результаты свидетельствуют о сохранении риска заноса и распространения гриппа птиц и ньюкаслской болезни в промышленных птицеводческих хозяйствах и личных подсобных хозяйствах граждан.

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

Благодарности: Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования при проведении государственного эпизоотологического мониторинга (приказ Россельхознадзора № 1519 от 28.12.2018).

Для цитирования: Волкова М. А., Чвала Ир. А., Осипова О. С., Кулагина М. А., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни в Российской Федерации в 2019 году. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 76–82. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-76-82.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Волкова Марина Алексеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, *e-mail: volkovama@arriah.ru.*

UDC 619:578.832.1:578.831.1:616-078

Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2019

M. A. Volkova[1], Ir. A. Chvala[2], O. S. Osipova[3], M. A. Kulagina[4], D. B. Andreychuk[5], I. A. Chvala[6]
FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia
[1] *ORCID 0000-0002-7674-639x, e-mail: volkovama@arriah.ru*
[2] *ORCID 0000-0001-5846-1262, e-mail: chvala_ia@arriah.ru*
[3] *ORCID 0000-0002-3176-157x, e-mail: osipova@arriah.ru*
[4] *ORCID 0000-0001-6959-3965, e-mail: kulagina@arriah.ru*
[5] *ORCID 0000-0002-1681-5795, e-mail: andreychuk@arriah.ru*
[6] *ORCID ID 0000-0002-1659-3256, e-mail: chvala@arriah.ru*

SUMMARY

More than 30,000 samples of blood serum from domestic, wild and synanthropic birds from 50 regions of the Russian Federation were submitted to the FGBI "ARRIAH" (Vladimir) Reference Laboratory for Avian Viral Diseases to be tested for avian influenza and Newcastle disease within the framework of monitoring activities conducted by the Rosselkhoznadzor in 2019. As a result of the laboratory diagnosis, antibodies to type A influenza virus were detected in vaccinated chickens from two poultry farms in the Perm and Primorsky Krais (A/N9). The detected antibodies were specific to the haemagglutinin subtype of the vaccine antigen. As for the backyards in the RF Subjects, where scheduled vaccination against avian influenza A/H5 is carried out, a low level of immunity was seen in the Rostov and Astrakhan Oblasts (35 and 44%, respectively) while a high level of immunity was observed in the Republic of Altai, Krasnodar Krai, the Chechen Republic and the Primorsky Krai (69, 78, 80 and 88%, respectively). High seroprevalence of Newcastle disease virus in adult poultry in indoor holdings was associated with mass vaccination against the disease. In broiler chickens, post-vaccination antibodies were observed, on average, in 42% of the studied blood serum samples. Antibodies to the Newcastle disease virus were detected in 39% of samples from backyard chickens. Seroprevalence in wild and synanthropic birds was high. The obtained results suggest that the risk of introduction and spread of avian influenza and Newcastle disease in industrial poultry farms and in backyards remains.

Key words: avian influenza, Newcastle disease, epizootology, monitoring, poultry, wild birds.

Acknowledgements: The study was financed from the budget within the framework of the State epidemic monitoring (Rosselkhoznadzor Order No. 1519 of 28.12.2018).

For citation: Volkova M. A., Chvala Ir. A., Osipova O. S., Kulagina M. A., Andreychuk D. B., Chvala I. A. Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2019. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 76–82. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-76-82.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Marina A. Volkova, Candidate of Sciences (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, *e-mail: volkovama@arriah.ru.*

ВВЕДЕНИЕ

Высокопатогенный грипп птиц (ВПГП) и ньюкаслская болезнь (НБ) относятся к заболеваниям, подлежащим обязательному уведомлению Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) при их выявлении на территории государства.

У домашних птиц эти заболевания могут вызывать поражение жизненно важных органов и последующую гибель всего невакцинированного поголовья, что влечет большие экономические потери для птицеводческих хозяйств [1–3].

Ньюкаслская болезнь птиц получила широкое распространение во всем мире [4–7]. В течение 2019 г. вспышки ньюкаслской болезни, нотифицированные в МЭБ, имели место в США, Мексике, Израиле, Казахстане и России. По данным срочных сообщений ветеринарных служб субъектов Российской Федерации, в 2019 г. вспышки НБ в стадах домашней птицы были зарегистрированы в 9 регионах страны (18 неблагополучных пунктов). Эпизоотия НБ, вызванная вирусом подтипа VII-L, была масштабной по географии распространения (Краснодарский край, Чеченская Республика, Ставропольский край, Приморский край, Саратовская область, Забайкальский край, Алтайский край, Омская и Курская области) и длительной по времени (с января по декабрь 2019 г.).

В последние годы наблюдалась устойчивая тенденция к уменьшению количества стран, сообщивших о вспышках ВПГП. Согласно данным МЭБ, в 2018 и 2019 гг. получены сообщения о вспышках ВПГП из 33 и 20 стран мира соответственно. Возбудителем ВПГП в основном был высоковирулентный вирус подтипа H5 с различными нейраминидазами, преобладали подтипы H5N1 и H5N8 [8–11].

По данным срочных уведомлений ветслужб субъектов Российской Федерации, выявление ВПГП подтипа H5 в стадах домашних птиц было зарегистрировано в 2018 г. в 15 регионах (более 80 случаев), в 2019 г. – только в Ростовской области (2 случая), о чем было сообщено в МЭБ.

С начала 2020 г. наблюдается обратная тенденция по увеличению активности ВПГП, в январе 2020 г. в МЭБ поступили сообщения о вспышках ВПГП из 12 стран мира (Германия, Китай, Румыния, Словакия, Украина, Чехия, Венгрия, Польша, Тайвань, Саудовская Аравия, Израиль и Вьетнам). Поскольку ряд государств непосредственно граничат с РФ, а с другими страну связывают торговые отношения, существует реальная опасность заноса инфекции на территорию России.

Необходимость осуществления мониторинговых исследований по гриппу птиц и ньюкаслской болезни определяется опасностью заноса новых штаммов вирусов на территорию страны, угрозой внедрения патогена в промышленные птицеводческие предприятия, возникновением эпизоотий, причиняющих огромный экономический ущерб [8, 9, 12, 13].

В работе представлен анализ результатов серологического мониторинга по ньюкаслской болезни и гриппу птиц среди домашних, синантропных и диких птиц на территории Российской Федерации, проведенного в 2019 г. в рамках реализации мероприятий Россельхознадзора по диагностике и профилактике особо опасных болезней животных, направленных на обеспечение охраны территории Российской Федерации от заноса из иностранных государств и распространения болезней животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

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

Исследования проводили с использованием коммерческих наборов для выявления антител к вирусам

ньюкаслской болезни и гриппа птиц производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» согласно инструкции производителя и диагностических препаратов (антигены вируса гриппа птиц подтипов H5, H7 и H9 и гомологичные к ним сыворотки) производства GD (Нидерланды) и IZSVe (Италия) по стандартной методике [14]. Наборы на основе иммуноферментного анализа (ИФА) использовали для тестирования сывороток крови кур и индеек на грипп птиц и кур на НБ, наборы на основе реакции торможения гемагглютинации (РТГА) – для исследования сывороток крови домашних птиц (кур, индеек, уток, гусей, перепелов и фазанов), диких и синантропных птиц. Поступившие для исследования сыворотки крови предварительно инактивировали прогреванием при температуре 56 °С в течение 30 мин. Результат исследования в РТГА считался положительным, если титр сыворотки составлял 4,0 $\log_2$ и выше для гриппа птиц и 3,0 $\log_2$ и выше для ньюкаслской болезни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках государственного эпизоотологического мониторинга (приказ Россельхознадзора № 1519 от 28.12.2018 «О лабораторных исследованиях в рамках реализации мероприятий Россельхознадзора для выполнения требований Соглашения ВТО по СФС при вступлении России в ВТО на 2020 год») в 2019 г. было проведено исследование в РТГА и ИФА 28 262 проб сывороток крови домашних птиц из 49 регионов РФ на наличие антител к вирусу ньюкаслской болезни. Пробы сывороток крови птиц (кур, индеек, перепелов и гусей) в количестве 20 374 штук были доставлены из 139 промышленных птицеводческих хозяйств 41 региона РФ (рис. 1).

От молодняка кур промышленного и родительского стада (в возрасте до 100 сут) было исследовано 1315 проб сыворотки крови, в 936 были обнаружены специфические к вирусу НБ антитела. Процент серопозитивной птицы среди молодняка промышленного и родительского стада был минимальным – 48% – в Цен-

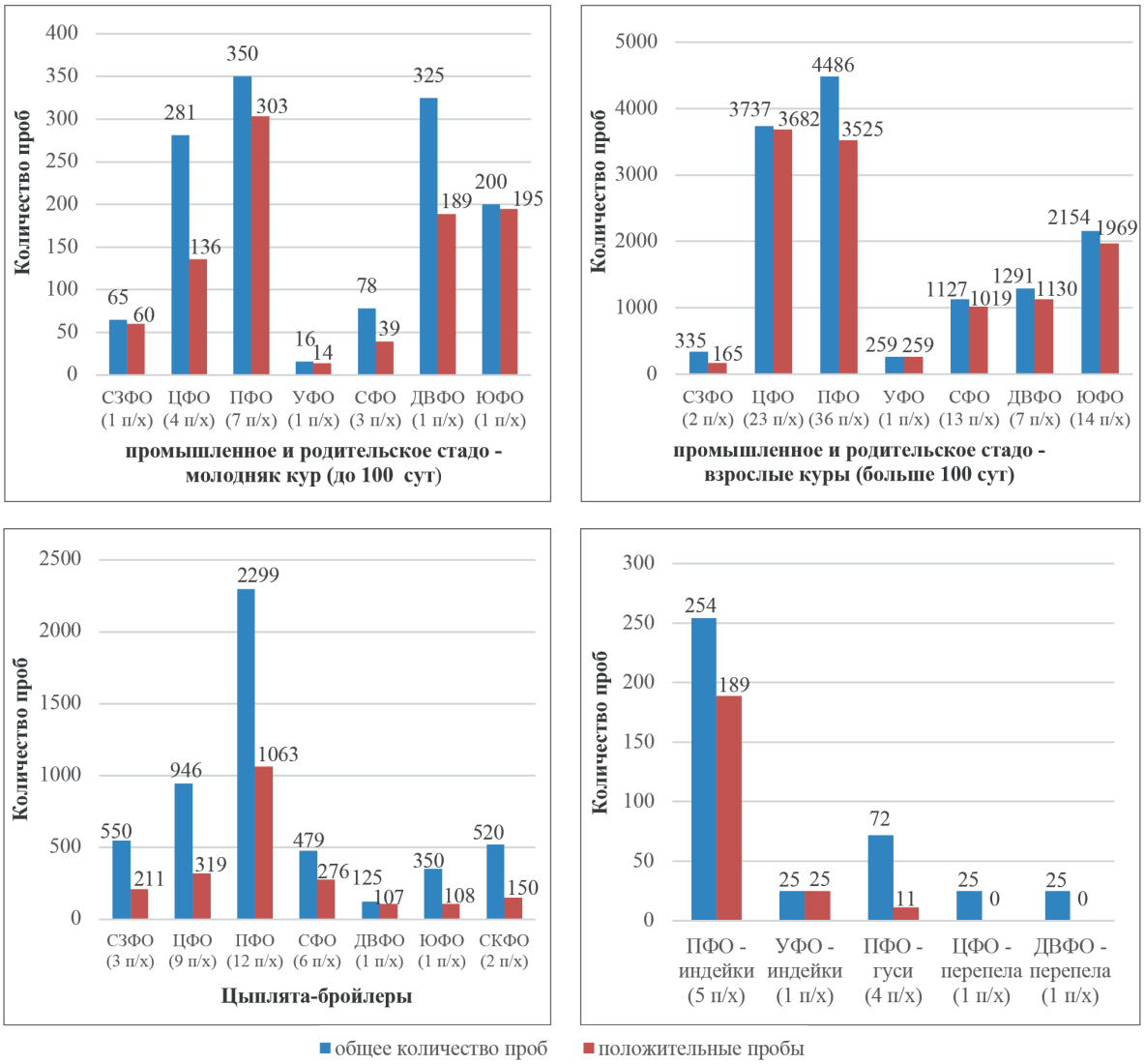


Рис. 1. Результаты исследований сывороток крови птиц из промышленных птицеводческих предприятий РФ в РТГА и ИФА на наличие антител к вирусу ньюкаслской болезни.
В скобках указано количество птицеводческих хозяйств, из которых доставляли пробы.

Fig. 1. Detection of antibodies to NDV in poultry sera, submitted from Russian industrial poultry farms, using HI test and ELISA.
The number of poultry farms from which samples were delivered is shown in parentheses.

тральном (ЦФО) и максимальным – 98% – в Южном (ЮФО) федеральных округах. До 60% положительных проб было обнаружено у птиц из Сибирского (СФО) и Дальневосточного (ДВФО) федеральных округов. В Приволжском (ПФО), Уральском ФО (УФО) и Северо-Западном (СЗФО) округах количество положительных проб составило 87–92%.

При исследовании 13 389 сывороток крови взрослой птицы из всех федеральных округов РФ 11 749 результатов были положительными. В СЗФО процент положительных проб был самый низкий – 49. В остальных округах количество положительных проб составляло от 79% в ПФО до 100% в Уральском федеральном округе (УФО).

При исследовании 5269 сывороток крови от цыплят-бройлеров из 7 федеральных округов РФ антитела к вирусу НБ были выявлены в 2234 пробах. Наименьшее количество положительных проб было выявлено в хозяйствах Северо-Кавказского федерального округа (СКФО) (29%), а наибольшее количество – в ДВФО (86%), в оставшихся округах процент положительных проб был в диапазоне от 31 до 58. Относительно невысокий средний процент положительных проб у цыплят-бройлеров можно объяснить применением в хозяйствах различных схем вакцинации, которые не всегда обеспечивали достаточно высокий уровень поствакцинальных антител к моменту отбора проб крови (в 30–45-суточном возрасте).

При исследовании сывороток крови индеек из ПФО и УФО антитела к вирусу НБ были обнаружены в 74 и 100% проб от вакцинированных птиц соответственно. В сыворотках крови перепелов антител к вирусу НБ не обнаружено. При исследовании сывороток крови гусей специфические антитела обнаружены у птиц из двух регионов – республик Марий Эл и Татарстан.

Выявленные антитела в сыворотках крови от птиц промышленных предприятий, по имеющейся в сопроводительных документах информации, были индуцированы вакцинными штаммами вируса НБ в составе живых или инактивированных вакцин. В некоторых хозяйствах был отмечен неудовлетворительный уровень поствакцинального иммунитета у цыплят-бройлеров.

Основная цель серологических мониторинговых исследований по гриппу А среди домашней птицы – это контроль отсутствия инфекции в невакцинированных стадах, а также контроль поствакцинального иммунитета у вакцинированного поголовья.

В течение 2019 г. для исследования на грипп птиц было доставлено 22 754 пробы сыворотки крови от птиц (кур, индеек, уток, гусей, перепелов) из 138 промышленных птицеводческих предприятий 41 региона 8 федеральных округов РФ (рис. 2).

Антитела к вирусу гриппа птиц были обнаружены у кур одного из хозяйств Пермского края (подтип H9) и у кур двух птицеводческих хозяйств из Приморского края (также подтип H9). Все предприятия применяли вакцинацию против гриппа птиц, выявленные антитела были гомологичными к вакцинным антигенам по гемагглютинину. У птиц других видов антител к вирусу гриппа птиц не обнаружено.

В течение 2019 г. на грипп птиц было исследовано 8699 проб сыворотки крови от разных видов домашних птиц (куры, индейки, гуси, утки, перепела, фазаны) из личных подсобных (ЛПХ) и крестьянских фермерских хозяйств (КФХ) 29 регионов РФ (табл. 1 и 2).

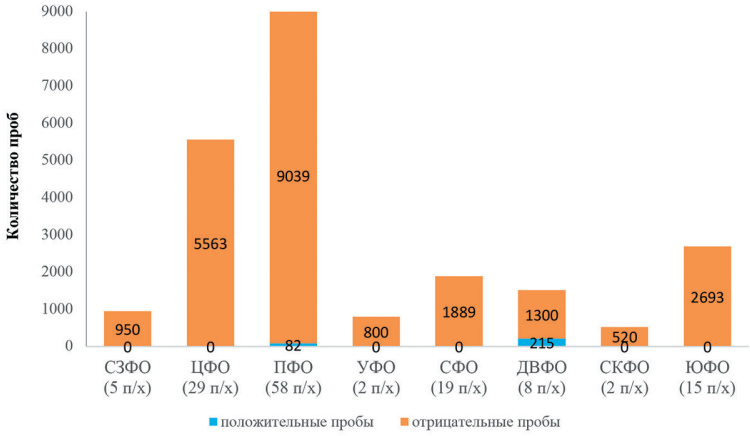


Рис. 2. Выявление антител к вирусу гриппа птиц в сыворотках крови птиц из промышленных птицеводческих хозяйств РФ в ИФА и РТГА в 2019 г.
В скобках указано количество птицеводческих хозяйств, из которых доставляли пробы.

Fig. 2. Detection of antibodies to AI virus in poultry sera, submitted from Russian industrial poultry farms, using ELISA and HI test in 2019.
The number of poultry farms from which samples were delivered is shown in parentheses.

За время наблюдений специфические антитела к вирусу гриппа были выявлены только в сыворотках крови вакцинированных против гриппа кур, пробы от других видов домашней птицы показали отрицательный результат (табл. 1 и 2).

По данным сопроводительных документов, вакцинация против гриппа проводилась инактивированными вакцинами, содержащими антиген гомологичного вируса гриппа A/H5. Процент позитивности у вакцинированного поголовья в различных регионах был от 35 до 80%. Низкий уровень поствакцинальных антител отмечали в Ростовской и Астраханской областях (35 и 44% соответственно), высокий уровень (69, 78, 80, 88%) – в Республике Алтай, Краснодарском крае, Чеченской Республике и Приморском крае соответственно.

В течение 2019 г. на наличие антител к вирусу НБ было исследовано 7888 проб сыворотки крови от домашних птиц ЛПХ и КФХ из 27 регионов 7 федеральных округов РФ (табл. 1 и 2). Специфические к вирусу НБ антитела были выявлены у трех видов птиц: кур, индеек и гусей. В 39% всех исследованных по РФ проб от кур были обнаружены антитела к вирусу НБ. У невакцинированных кур из трех регионов – Республики Мордовия, Иркутской области и Республики Алтай – специфических антител не выявили. По данным сопроводительных документов, куры для ЛПХ приобретались в основном на птицефабриках, где они были привиты против НБ, но в дальнейшем их вакцинация не проводилась. В КФХ в основном проводилась повторная вакцинация поголовья против НБ. У вакцинированных (по данным сопроводительных документов) кур антитела к вирусу НБ были обнаружены в 65% исследованных проб. Низкий процент положительных результатов может свидетельствовать о недостаточном уровне вакцинопрофилактики против НБ в ЛПХ и КФХ в исследованных регионах.

У вакцинированных индеек антитела обнаружили в 100% исследованных проб из Самарской области

Таблица 1
Выявление антител к вирусам ньюкаслской болезни и гриппа птиц в сыворотках крови домашних птиц из ЛПХ и КФХ РФ в ИФА и РТГА в 2019 г.

Table 1
Detection of antibodies to ND and AI viruses in poultry sera, submitted from backyards and small scale farms in the Russian Federation, using ELISA and HI test in 2019

Федеральный округ	Субъект РФ	Количество исследованных проб			
		ньюкаслская болезнь		грипп птиц	
		общее	положительные	общее	положительные
СЗФО	Мурманская область	н/и	н/и	10	0
ЦФО	Владимирская область	444	151	397	0
	Брянская область	55	24	55	0
	Курская область*	70	30	70	0
	Орловская область	191	7	148	1
	Смоленская область	76	32	76	0
ПФО	Республика Татарстан	287	85	389	0
	Республика Марий Эл	н/и	н/и	75	0
	Республика Мордовия	36	0	36	0
	Самарская область	50	50	50	0
УФО	Тюменская область	325	12	325	0
СФО	Омская область*	1	1	1	0
	Республика Алтай	100	0	139	69
	Республика Тыва	155	46	155	0
	Иркутская область	31	0	31	0
ДВФО	Забайкальский край*	362	50	362	0
	Амурская область	475	1	575	0
	Хабаровский край	350	41	350	0
	Приморский край*	300	300	600	264
ЮФО	Астраханская область	200	39	400	106
	Волгоградская область	300	144	300	0
	Краснодарский край*	100	100	100	78
	Республика Адыгея	173	140	173	0
	Ростовская область	1914	459	2092	245
СКФО	Республика Ингушетия	400	265	400	0
	Республика Дагестан	200	88	200	0
	Ставропольский край*	510	233	520	3
	Карачаево-Черкесская Республика	200	128	200	0
	Чеченская Республика*	583	339	470	374

н/и – пробы не исследовали (not tested);
* Регионы, в которых, по данным ветеринарных служб в 2019 г., были зарегистрированы вспышки НБ.
* Regions, where ND outbreaks were reported in 2019 (according to the data received from the veterinary services).

и в одной пробе от индеек из КФХ Амурской области. В пробах от индеек из Ростовской области и Забайкальского края, невакцинированных против НБ, антитела не обнаружены. От гусей было доставлено на исследование 133 пробы из 7 регионов 6 федеральных округов, в 3 пробах из Татарстана были обнаружены антитела к вирусу НБ.

Многие виды птиц являются природными резервуарами и переносчиками возбудителей инфекционных болезней, в связи с этим постоянный мониторинг эпизоотической ситуации среди диких птиц является одним из составляющих системы контроля, предупреждения и прогнозирования возникновения заболевания, в том числе и в отношении таких особо опасных вирусных болезней, как грипп и ньюкаслская болезнь.

В таблице 3 представлены результаты исследования сывороток крови от диких и синантропных птиц, отобранных в течение 2019 г., в РТГА.

При исследовании 236 сывороток крови от диких и синантропных птиц из 6 субъектов РФ антитела к вирусам гриппа птиц подтипов H5 и H7 не обнаружены.

Антитела к вирусу ньюкаслской болезни были выявлены в 153 из 255 исследованных проб из 4 субъектов РФ, в 123 пробах от синантропных птиц (вороны и голуби) и в 30 пробах от диких птиц. В большинстве случаев положительные пробы от голубей были отобраны вблизи территории крупных птицеводческих хозяйств, что может представлять собой угрозу для заноса инфекции в стада сельскохозяйственных птиц.

На рисунке 3 представлено расположение регионов РФ, в которых у домашних птиц и в дикой фауне были выявлены антитела к вирусу гриппа птиц и вирусу ньюкаслской болезни.

Из 50 регионов, представленных в мониторинговых исследованиях, в двух областях – Мурманской и Архангельской – не было выявлено специфических антител к обоим вирусам.

Следует отметить, что в 2019 г. в результате серологического мониторинга на территории Российской Федерации не были обнаружены антитела к вирусу гриппа птиц у невакцинированных против гриппа домашних птиц, тогда как исследования, проведенные в 2017–2018 гг., показали наличие постинфекционных антител к вирусу гриппа A/H5 в крови у птиц из ЛПХ Алтайского края, Ростовской и Калининградской областей и к вирусу гриппа A/H9 у птиц из ЛПХ и двух птицефабрик Приморского края. Анализ данных серологического мониторинга за последние три года показал сохранение нестабильной ситуации по НБ в РФ, поскольку, несмотря на высокую серопозитивность птицы в промышленных хозяйствах, недостаточно высокий уровень защиты в ЛПХ, в связи с отсутствием массовой вакцинации, создает постоянную угрозу возникновения заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, по результатам серологических исследований по НБ в рамках государственного эпизоотологического мониторинга в 2019 г. был установлен высокий уровень позитивности у птиц промышленных хозяйств, связанный с поголовной вакцинацией против этого заболевания, и недостаточная защита от НБ у домашней птицы из ЛПХ, что подтверждается регистрацией первичных очагов болезни, вызванной вирулентным штаммом вируса именно у птиц ЛПХ.

Серопревалентность НБ у диких и синантропных птиц, которые, вероятнее всего, являются естественным резервуаром вирусов ньюкаслской болезни различной степени патогенности, в отдельных регионах РФ была высокой.

Полученные результаты мониторинговых исследований по гриппу птиц показали в целом отсутствие специфических к вирусу гриппа антител у обследованных невакцинированных домашних птиц из промышленных и личных птицеводческих хозяйств и низкий уровень поствакцинального иммунитета к гриппу птиц в ЛПХ отдельных регионов России.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п.п. 2–7, 10, 11, 13, 14 см. REFERENCES)

1. Сарбасов А. Б., Ирза В. Н., Репин П. И., Старов С. К., Фролов С. В. Протективные свойства вакцины из штамма «Ла-Сота» при заражении цыплят вирулентным штаммом VII генотипа вируса ньюкаслской болезни. *Ветеринария*. 2015; 2: 8–31. eLIBRARY ID: 23016019.

8. Марченко В. Ю., Суслопаров И. М., Игнатьев В. Э., Гаврилова Е. В., Максютов Р. А., Рыжиков А. Б. Обзор ситуации по высокопатогенному вирусу гриппа птиц субтипа H5 в России в 2016–2017 гг. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1: 30–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-30-35.

9. Марченко В. Ю., Гончарова Н. И., Евсеенко В. А., Суслопаров И. М., Гаврилова Е. В., Максютов Р. А., Рыжиков А. Б. Обзор эпидемиологической ситуации по высокопатогенному вирусу гриппа птиц в России в 2018 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2019; 1: 42–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-42-49.

12. Михайлова В. В., Калмыков М. В., Белоусова Р. В. Эпизоотический мониторинг ньюкаслской болезни птиц за период 1999–2003 гг. *Вопросы физико-химической биологии в ветеринарии: сб. научных трудов*. М., 2004–2005: 94–98. eLIBRARY ID: 25133154.

REFERENCES

1. Sarbasov A. B., Irsa V. N., Repin P. I., Starov S. K., Frolov S. V. The study of protective properties of the vaccine strain "La-Sota" when infected chickens virulent strain of the genotype VII of the virus Newcastle disease. *Veterinariya*. 2015; 2: 28–31. eLIBRARY ID: 23016019. (in Russian)

2. Alexander D. J. An overview of the epidemiology of avian influenza. *Vaccine*. 2007; 25 (30): 5637–5644. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.10.051.

3. Alexander D. J., Aldous E. W., Fuller C. M. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian Pathol*. 2012; 41 (4): 329–335. DOI: 10.1080/03079457.2012.697991.

4. Pchelkina I. P., Manin T. B., Kolosov S. N., Starov S. K., Andriyasov A. V., Chvala I. A., et al. Characteristics of pigeon paramyxovirus serotype-1 isolates (PPMV-1) from the Russian Federation from 2001 to 2009. *Avia. Dis*. 2012; 57 (1): 2–7. DOI: 10.1637/10246-051112-reg.1.

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

6. Amarasinghe G. K., Aréchiga Ceballos N. G., Banyard A. C., Basler C. F., Bavari S., Bennett A. J., et al. Taxonomy of the order *Mononegavirales*: update 2018. *Arch. Virol*. 2018; 163; 8: 2283–2294. DOI: 10.1007/s00705-018-3814-x.

7. Dimitrov K. M., Ramey A. M., Qiu X. , Bahl J., Afonso C. L. Temporal, geographic, and host distribution of avian paramyxovirus 1 (Newcastle disease virus). *Infect. Genet. Evol.* 2016; 39: 22–34. DOI: 10.1016/j.meegid.2016.01.008.

8. Marchenko V. Y., Susloparov I. M., Ignat'ev V. E., Gavrilova E. V., Maksyutov R. A., Ryzhikov A. B. Overview of the Situation on Highly Pathogenic Avian Influenza Virus H5 in Russia in 2016–2017. *Problems of Particularly Dangerous Infections* [*Problemy Osobo Opasnykh Infectcii*]. 2018; 1: 30–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-30-35. (in Russian)

9. Marchenko V. Y., Goncharova N. I., Evseenko V. A., Susloparov I. M., Gavrilova E. V., Maksyutov R. A., Ryzhikov A. B. Overview of the epidemiological situation on highly pathogenic avian influenza virus in Russia in 2018. *Problems of Particularly Dangerous Infections* [*Problemy Osobo Opasnykh Infectcii*]. 2019; 1: 42–49. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-1-42-49. (in Russian)

10. Li X., Zhang Z., Yu A., Ho S., Carr M. J., Zheng W., et al. Global and local persistence of influenza A(H5N1) virus. *Emerg. Infect. Dis*. 2014; 20 (8): 1287–1295. DOI: 10.3201/eid2008.130910.

11. Jeong J., Kang H. M., Lee E. K., Song B. M., Kwon Y. K., Kim H. R., et al. Highly pathogenic avian influenza virus (H5N8) in domestic poultry and its relationship with migratory birds in South Korea during 2014. *Vet. Microbiol*. 2014; 173 (3–4): 249–257. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.08.002.

Таблица 2

Выявление антител к вирусу ньюкаслской болезни и гриппа птиц в сыворотках крови разных видов птиц из ЛПХ и КФХ РФ в 2019 г.

Table 2

Detection of antibodies to ND and AI viruses in sera collected from different poultry species in backyards and small scale farms in the Russian Federation in 2019

Вид птицы	Количество исследованных проб			
	ньюкаслская болезнь		грипп птиц	
	общее	положительные	общее	положительные
куры	7020	2711	7572	1140
индейки	580	51	711	0
утки	155	0	186	0
гуси	133	3	212	0
перепела и фазаны	н/и	н/и	18	0
Всего	7888	2765	8699	1140

н/и – не исследовали (not tested).

Таблица 3

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

Table 3

Detection of antibodies to ND virus and AI viruses in sera from wild and synanthropic birds using HI test

Субъект РФ	Вид птицы	Количество исследованных проб / количество положительных проб		
		НБ	ВПГП H5	ВГГП H7
Ярославская область	птицы полей и лесов (глухарь, тетерев, вальдшнеп)	10/10 (100%)*	10/0	10/0
	птица водного комплекса (дикие утки и гуси)	27/20 (74%)	27/0	27/0
	синантропная птица	12/12 (100%)	12/0	12/0
Самарская область	синантропная птица (голуби)	30/0	30/0	30/0
Республика Мордовия	синантропная птица (вороны, голуби)	112/88 (79%)	112/0	112/0
	птицы полей и лесов (жаворонок, скворец, грач)	10/0	10/0	10/0
Республика Татарстан	синантропная птица (голуби)	14/12 (86%)	н/и	н/и
Красноярский край	синантропная птица (голуби)	30/11 (37%)	25/0	25/0
Республика Тыва	птица водного и околоводного комплекса (чомга, малая поганка серебристая чайка, коршун)	10/0	10/0	10/0
Всего:		255/153 (60%)	236/0	236/0

н/и – не исследовали (not tested);

* В скобках указан процент положительных от общего количества исследованных проб.

* Positive sample percentage of the total number of samples tested.

12. Mikhailova V. V., Kalmykov M. V., Belousova R. V. Epidemic monitoring of Newcastle disease in 1999–2003 [Epizooticheskij monitoring n`yukaslskoj bolezni pticz za period 1999–2003]. *Aspects of physical and chemical biology in veterinary medicine: collection of scientific papers* [*Voprosy fiziko-*

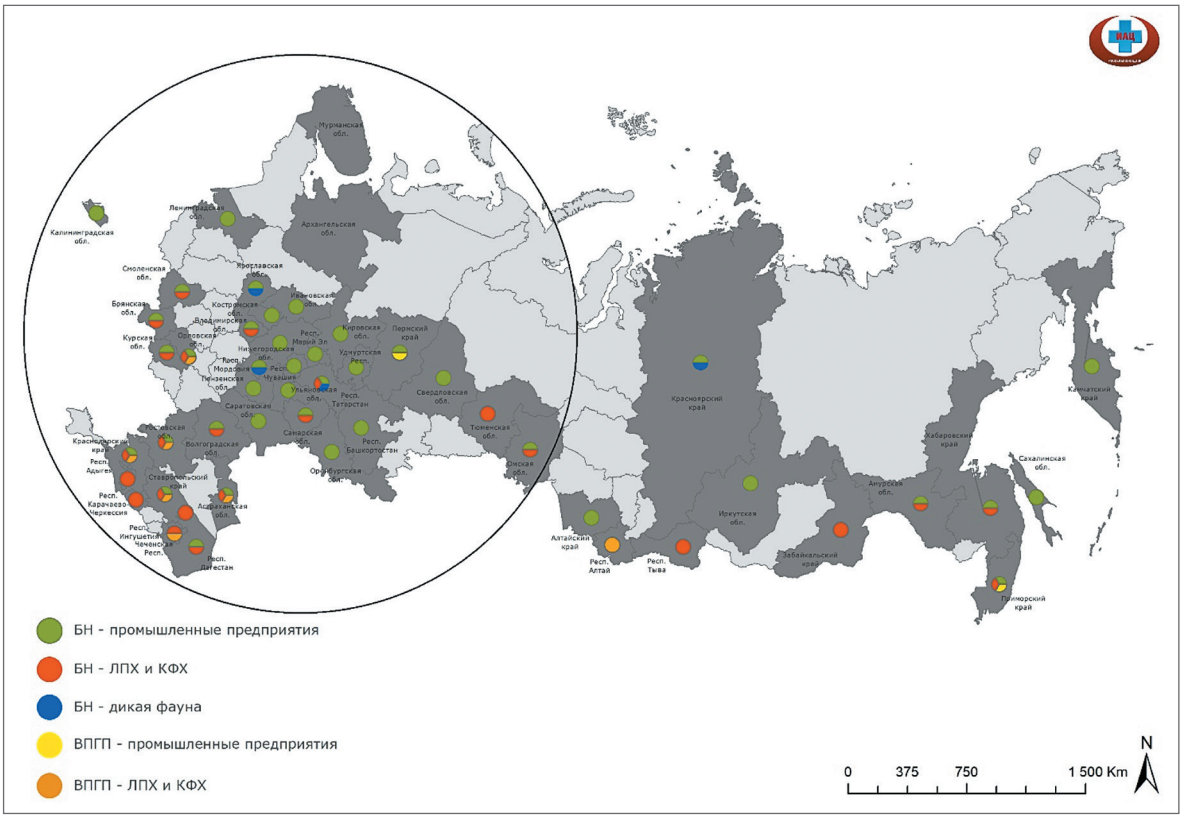


Рис. 3. Регионы Российской Федерации, на территории которых в ходе мониторинговых исследований у птиц было выявлено наличие антител к вирусам гриппа птиц и ньюкаслской болезни в 2019 г. (выделены регионы, из которых доставлены пробы)

Fig. 3. RF Regions in which monitoring studies revealed antibodies to ND and AI viruses in 2019 (highlighted regions – the ones from which samples were delivered)

himicheskoj biologii v veterinarii: sb. nauchnyh trudov]. M., 2004–2005: 94–98. eLIBRARY ID: 25133154. (in Russian)

13. Infection with Newcastle disease virus. *In: OIE. Terrestrial Animal Health Code. Vol. 2. Recommendations applicable to OIE Listed diseases and other diseases of importance to international trade.* 2019. Available at: https://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_nd.htm.

14. Avian influenza (infection with avian influenza viruses). *In: OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2018; Chap. 3.3.4: 821–843. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf.

Поступила 25.03.2020
Принята в печать 22.05.2020

Received on 25.03.2020
Approved for publication on 22.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Волкова Марина Алексеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Чвала Ирина Александровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Осипова Ольга Сергеевна, ветеринарный врач референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Кулагина Мария Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Андрейчук Дмитрий Борисович, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Чвала Илья Александрович, кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по НИР и мониторингу ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Marina A. Volkova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Irina A. Chvala, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Olga S. Osipova, Veterinarian, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Maria A. Kulagina, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Dmitry B. Andreychuk, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Ilya A. Chvala, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

УДК 619:616.98:578.832.1:616-076
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-83-88

Результаты научной экспедиции в природные биотопы Республики Тыва в 2019 году для проведения мониторинга инфекционных болезней в популяциях диких птиц

М. С. Волков[1], В. Н. Ирза[2], А. В. Варкентин[3], С. В. Роголев[4], А. В. Андриясов[5]

[1,2,3,5] ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

[4] Управление РСХН по Республикам Хакасия и Тыва и Кемеровской области, г. Кызыл, Республика Тыва, Россия

[1] *ORCID 0000-0002-8819-0720, e-mail: volkov_ms@arriah.ru*

[2] *ORCID 0000-0001-7489-1772, e-mail: irza@arriah.ru*

[3] *ORCID 0000-0002-9732-1083, e-mail: varkentin@arriah.ru*

[4] *e-mail: tuvrshn_ozg@mail.ru*

[5] *ORCID 0000-0001-6314-2119, e-mail: andriyasov_av@arriah.ru*

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты научной экспедиции на озёра Тере-Холь и Убсу-Нур Республики Тыва с целью активного мониторинга особо опасных болезней среди диких перелетных водоплавающих птиц и проведения эпизоотологического исследования акватории выбранных биотопов. Озеро Убсу-Нур является своеобразным индикатором заноса вируса гриппа птиц на территорию Российской Федерации, так как оно служит местом стоянок и гнездований многих диких перелетных птиц в период массовых миграций из стран Центральной и Юго-Восточной Азии. При проведении активного мониторинга проводилось полное вскрытие трупов птиц с описанием органов и систем и отбором проб для лабораторной диагностики. В качестве биологического и патологического материала отбирали пробы помета (пуловые пробы), кусочки внутренних органов от мертвых и отстрелянных птиц, кровь (при возможности). При отборе образцов для исследований проводили идентификацию вида с использованием орнитологического определителя. При патологоанатомическом исследовании мертвых или убитых с диагностической целью водоплавающих птиц выявлена высокая степень глистной инвазии нематодами и цестодами. В двух пробах от чаек серебристых был выявлен геном вируса гриппа птиц типа А и в одной из них идентифицирован подтип H13N6. В одной пробе от чаек выявлен парамиксовирус 1-го серотипа (APMV-1) – возбудитель ньюкаслской болезни. Озёра Республики Тыва являются важнейшими точками пробоотбора биоматериала от диких птиц, поскольку первичное обнаружение вируса высокопатогенного гриппа на данных территориях является серьезным сигналом о возможности дальнейшего распространения возбудителя и предвестником возможной эпизоотии. Несмотря на отсутствие случаев обнаружения высоковирулентных изолятов вируса гриппа в дикой популяции, среднесрочный прогноз на 2020 г. можно охарактеризовать как «осторожный», поскольку наблюдается ухудшение эпизоотической ситуации по гриппу в мире, особенно в европейских странах, и сохраняется угроза заноса вируса на территорию России с перелетными птицами.

Ключевые слова: грипп птиц, дикая перелетная птица, озеро, эпизоотия, инвазия, паразитоз.

Благодарность: Экспедиция проведена в рамках исследовательской программы за счет средств по контракту с МАГАТЭ № 22555/R0.

Для цитирования: Волков М. С., Ирза В. Н., Варкентин А. В., Роголев С. В., Андриясов А. В. Результаты научной экспедиции в природные биотопы Республики Тыва в 2019 году для проведения мониторинга инфекционных болезней в популяциях диких птиц. *Ветеринария сегодня.* 2020; 2 (33): 83–88. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-83-88.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Волков Михаил Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, *e-mail: volkov_ms@arriah.ru.*

UDC 619:616.98:578.832.1:616-076

Results of scientific expedition to natural biotopes of the Republic of Tyva in 2019 with the purpose of infectious disease monitoring in wild bird populations

M. S. Volkov[1], V. N. Irza[2], A. V. Varkentin[3], S. V. Rogolyov[4], A. V. Andriyasov[5]

[1,2,3,5] FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia

[4] Rosselkhoznadzor Administration for the Republics of Khakassia and Tyva and Kemerovo Oblast, Kyzyl, Republic of Tyva, Russia

[1] *ORCID 0000-0002-8819-0720, e-mail: volkov_ms@arriah.ru*

[2] *ORCID 0000-0001-7489-1772, e-mail: irza@arriah.ru*

[3] *ORCID 0000-0002-9732-1083, e-mail: varkentin@arriah.ru*
[4] *e-mail: tuvrshn_ozg@mail.ru*
[5] *ORCID 0000-0001-6314-2119, e-mail: andriyasov_av@arriah.ru*

SUMMARY

The results of the scientific expedition to Tere Khol and Uvs Nuur Lakes in the Republic of Tyva with the purpose of active monitoring of highly dangerous diseases in wild migratory waterfowl and epidemic analysis of these biotope water areas are presented in the paper. The Uvs Nuur Lake is a kind of an indicator for avian influenza introduction to the Russian Federation, because this is the resting and nesting area for many migratory wild birds during the period of mass migrations from Central and South-East Asian countries. In the process of active monitoring the complete autopsy of bird carcasses with description of organs and systems and sampling for laboratory diagnostics were performed. Droppings (pooled samples), parts of internal organs from dead and shot birds, blood (if possible) served as biological and pathological material for testing. While sampling, species were identified using an ornithological guide. The autopsy of dead waterfowl and birds shot for diagnostic purposes demonstrated a high worm burden of nematodes and cestodes. Two samples from European herring gulls were positive for avian influenza type A virus genome and subtype H13N6 was identified in one of them. Avian paramyxovirus serotype 1 (APMV-1), the agent of Newcastle disease, was found in one sample from gulls. The lakes of the Republic of Tyva are the most significant sites for sampling of biological material from wild birds, as the primary detection of highly pathogenic avian influenza virus in this territory is a serious signal of potential further virus spread and a precursor to a probable epizooty. Notwithstanding the absence of AIV very virulent isolate detections in wild bird populations the middle term prognosis for 2020 can be designated as cautious, as the avian influenza epidemic situation is deteriorating globally, especially in the European countries, and the threat of the virus introduction to the Russian territory with migratory birds still exists.

Key words: avian influenza, wild migratory bird, lake, epizooty, invasion, parasitic disease.

Acknowledgements: The mission was financed within the research program implemented under the IAEA contract 22555/R0.

For citation: Volkov M. S., Irza V. N., Varkentin A. V., Rogolyov S. V., Andriyasov A. V. Results of scientific expedition to natural biotopes of the Republic of Tyva in 2019 with the purpose of infectious disease monitoring in wild bird populations. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 83–88. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-83-88.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Mikhail S. Volkov, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Epizootology and Monitoring, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, *e-mail: volkov_ms@arriah.ru.*

ВВЕДЕНИЕ

Природные экосистемы, в которых отсутствует воздействие антропогенного фактора на биотопы, представляют колоссальный интерес для ветеринарной, медицинской и биологической науки, так как дают возможность изучить закономерности развития инфекционного и эпизоотического процессов и особенностей экологии возбудителей инфекционных заболеваний в естественной среде, где могут формироваться и поддерживаться природные очаги болезней[1]. Экосистемы Республики Тыва, а именно озёра Убсу-Нур и Тере-Холь, для изучения экологии вируса гриппа птиц выбраны неслучайно. Ученые ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») ежегодно организуют научные экспедиции на озёра Республики Тыва, а озеро Убсу-Нур является своеобразным индикатором заноса вируса на территорию Российской Федерации, так как оно служит местом стоянок и гнездований многих диких перелетных птиц в период массовых миграций из стран Центральной и Юго-Восточной Азии. Так, в 2006 г. на озере была выявлена массовая гибель диких перелетных птиц (превалирующий вид – чомга/*Podiceps cristatus*) в результате заражения высокопатогенным гриппом H5N1. В июне 2009 и 2010 гг. на озере также обнаруживали мертвых птиц разного видового состава (чомга/*Podiceps cristatus*, гусь гуменник/*Anser fabalis*, колпица/*Platalea leucorodia*, черноголовый хохотун/*Larus ichthyaetus*, серая утка/*Anas strepera*, большой баклан/*Phalacrocorax carbo*, лысуха/*Fulica atra*, большая белая цапля/*Egretta alba*, красноголовый нырок/*Aythya ferina*), погибших в результате заражения гриппом H5N1. В 2015 г. от мертвых чомг также был выделен вирус гриппа H5N1. С 2011 г. в сыворотках крови, полученных от отстрелянных с диагностической целью птиц, выявляли специфические антитела к вирусу гриппа подтипов H5, H7 и H9 в диагностически значимых титрах, что может свидетельствовать о циркуляции вируса гриппа среди мигрирующих водоплавающих птиц. В мае 2016 г. от павших и отстрелянных диких птиц на озере Убсу-Нур был выделен вирус гриппа A/H5N8, который впоследствии вызвал эпизоотию среди птиц сельскохозяйственного назначения на территории России (конец 2016 – январь 2019 гг.). Поэтому проведение ежегодного комплексного мониторинга в популяциях диких водоплавающих птиц является актуальной и важной задачей практической ветеринарии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспедиция 2019 г. в Республику Тыва организована в рамках исследовательской программы ФАО/МАГАТЭ (контракт № 22555/R0). В целях недопущения отстрела краснокнижных и реликтовых видов птиц при проведении активного мониторинга в экспедиционную группу входил государственный охотовед. Проводилось полное вскрытие трупов птиц с описанием органов и систем и отбором проб для лабораторной диагностики. В качестве биологического и патологического материала отбирали пробы помета (пуловые пробы), кусочки

[1] Львов Д. К., Ильичев В. Д. Миграции птиц и перенос возбудителей инфекции. Эколого-географические связи птиц с возбудителями инфекции. М.: Наука; 1979. 270 с.

внутренних органов от мертвых и отстрелянных птиц, кровь (при возможности). При отборе образцов для исследований проводили идентификацию вида с использованием орнитологического определителя [1, 2]. Доставку материала в лабораторию осуществляли в герметичных влагонепроницаемых термоконтейнерах с наличием аккумуляторов холода в соответствии с действующими нормами [3]. При проведении эпизоотологического исследования акватории озер использовали классические методы эпизоотологии и фото- и видеоаппаратуру.

Для получения суспензии пробы кусочков внутренних органов и помета гомогенизировали до кашицеобразного состояния и добавляли стерильный забуференный физиологический раствор с pH 7,4. С целью проведения дальнейших исследований один миллилитр полученной суспензии переносили в пробирку и центрифугировали для осветления при низких оборотах.

Выделение суммарной РНК осуществляли с помощью набора «РИБО-сорб» (кат. № К2-1-Et-100) согласно инструкции производителя.

Обратно-транскриптазную полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) проводили в одну стадию с использованием набора OneStep RT-PCR Kit (Qiagen, кат. № 210212), 25 мМ раствора хлорида магния (Promega, в наборе с кат. № M8296) и систем праймеров на гены M, H, N. Собирали смесь объемом 25 мкл, содержащую 7,5 мкл деионизованной воды, 5 мкл 5× буфера для ОТ-ПЦР, 2,75 мкл 25 мМ раствора хлорида магния, 1 мкл раствора 10 мМ дНТФ, по 1 мкл раствора прямого и обратного праймеров (10 пмоль/мкл), 0,75 мкл раствора флуоресцентного зонда (10 пмоль/мкл), 1 мкл смеси ферментов обратной транскриптазы и полимеразы, 5 мкл раствора суммарной РНК. Обратную транскрипцию проводили 30 мин при температуре 50 °С. Собственно для амплификации применяли следующие температурно-временные параметры: 95 °С – 10 мин (активация полимеразы), далее 40 циклов, каждый из которых состоит из трех шагов (95 °С – 10 с, 55 °С – 35 с, 72 °С – 10 с).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пресное озеро Тере-Холь располагается на высоте 1300 м над уровнем моря на юго-востоке Республики Тыва в Тере-Хольской тектонической котловине, неподалеку от границы с Монголией. Отсутствие антропогенного фактора и богатая кормовая база озера привлекают диких водоплавающих птиц, несмотря на слаборазвитую прибрежную растительность. Озеро является сильно заболоченным, вода имеет специфический болотный запах (рис. 1). При осмотре территории трупов диких птиц выявлено не было.

Российская часть озера Убсу-Нур находится в южной части Республики Тыва, на границе с Монголией (рис. 2). Озеро расположено в тектонической впадине – котловине Больших озер, является бессточным и умеренно соленым, его вода непригодна для потребления и имеет горьковато-соленый вкус. Ежегодно площадь озера уменьшается за счет высыхания. Берега российской части озера (протяженностью около 10 км) заболоченные, труднодоступные. Климат котловины является резко континентальным с существенными колебаниями суточных и годовых температур. При исследовании на берегу озера были обнаружены 3 трупа чаек серебристых (*Larus argentatus*).

Рис. 1. Акватория оз. Тере-Холь, 2019 г.

Fig. 1. Tere Khol Lake area, 2019

При осмотре акватории озер встречались такие виды птиц, как журавли (*Grus*), кулики (*Limicolae*), чайки (*Laridae*), кряква (*Anas platyrhynchos*), красноголовый нырок (*Aythya ferina*), чирок-трескунок (*Spatula querquedula*), лысуха (*Fulica atra*), чомга (*Podiceps cristatus*), огарь (*Tadorna ferruginea*), воробьинообразные (*Passeriformes*).

В рамках активного мониторинга в 2019 г. от диких птиц с территории Республики Тыва было отобрано 90 проб биологических материалов: кусочки кишечника, почек, селезенки, в некоторых случаях – головной мозг, а также пробы помета (таблица).

При вскрытии мертвых или убитых с диагностической целью птиц в 50% случаев наблюдали моно- и смешанные инвазии (цестодозы и нематодозы). При обнаружении половозрелых цестод в тонком отделе кишечника (рис. 3) на вскрытии отмечали вздутие петель кишечника, полнокровие сосудов, катаральное воспаление слизистой, которая была гиперемирована и отечна (рис. 4), расширение желчного пузыря с выбросом желчи в просвет желудка и панкреатит (увеличение, гиперемия, отечность и дряблость поджелудочной железы). Цестоды белого цвета имели длину от 12 до 20 см, ширина члеников превосходила их длину (рис. 5). У бакланов, чаек и уток в железистом и мускульном желудках выявляли интенсивную инвазию нематодами, которые в длину составляли от 0,5 до 5 см (рис. 6–8). При этом слизистая железистого желудка

Рис. 2. Акватория оз. Убсу-Нур (граница с Монголией), 2019 г.

Fig. 2. Uvs Nuur Lake area (Mongolian border), 2019

Таблица
Количество отобранных проб в природных биотопах

Table
Number of samples taken in natural biotopes

Вид птиц	озеро Тере-Холь	озеро Убсу-Нур
Отряд ржанкообразные (*Charadriiformes*)		
Чайка озерная (*Larus ridibundus*)	3	–
Чайка серебристая (*Larus argentatus*)	–	8
Крачка (*Sterna hirundo*)	2	–
Кулик (*Limicolae*)	1	–
Бекас (*Gallinago gallinago*)	1	–
Отряд гусеобразные (*Anseriformes*)		
Чирок-трескунок (*Anas querquedula*)	2	–
Красноголовый нырок (*Aythya ferina*)	1	1
Отряд журавлеобразные (*Gruiformes*)		
Лысуха (*Fulica atra*)	3	–
Отряд поганкообразные (*Podicipediformes*)		
Чомга (*Podiceps cristatus*)	1	–
Отряд олушеобразные (*Suliformes*)		
Баклан (*Phalacrocorax*)	–	2
Пробы помета (объединенные пробы)	28	19
Гидробионты	18	–

Рис. 3. Цестоды в кишечнике (дрепанидотениоз)

Fig. 3. Cestodes in intestines (drepanidotaeniosis)

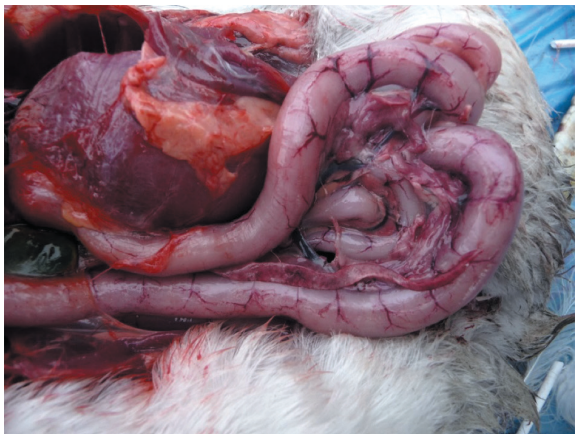


Рис. 4. Вздутие и полнокровие сосудов петель кишечника

Fig. 4. Distention and vascular congestion of intestinal loops

была гиперемированной и резко отечной с точечными кровоизлияниями. Кутикула мышечного желудка была дряблой и легко отделялась, под кутикулой отмечали очаги гиперемии и кровоизлияний. Интенсивность глистной инвазии оценивали как высокую. Такую степень заражения гельминтами в популяции диких птиц можно объяснить тем, что в рассматриваемых экосистемах Республики Тыва существуют оптимальные условия для развития промежуточных хозяев паразитов птиц, а именно ракообразных: циклопов, дафний, гаммарусов, а также моллюсков и других водных беспозвоночных. Так, промежуточными хозяевами для цестод являются циклопы, в организме которых развиваются личинки – цистицеркоиды; гаммарусы – для многих гельминтов, возбудителей тетрамероза, стрептокароза и др.[2]

При вскрытии мертвых чаек, обнаруженных на берегу озера Убсу-Нур, наблюдали разлитые кровоизлияния под кожей головы и в яйцеводе (рис. 9–10), воспаление поджелудочной железы и тонкого отдела кишечника. В 2 пробах был выявлен геном вируса гриппа птиц типа А. В одной из них идентифицирован подтип H13N6. В пробе, полученной от третьей чайки, был выявлен парамиксовирус 1-го серотипа (APMV-1) – возбудитель ньюкаслской болезни. Несмотря на положительные результаты ПЦР, изолировать данные патогены на куриных эмбрионах или культурах клеток не удалось.

В пробах гидробионтов (гаммарусов), отобранных на озерах, генетического материала вируса гриппа типа А выявлено не было. Однако существуют доказательства накопления вируса гриппа в организмах-гидробионтах, в частности мидий и дафний, обитающих в природных озерах и реках. Так, A. Pathak et al. изучали выживаемость вируса низкопатогенного гриппа H9N2 в бамбуковой креветке (*Atyopsis moluccensis*) и установили, что данный вид организмов способен механически накапливать возбудителя гриппа и поддерживать его циркуляцию в биотопе [4].

Несмотря на отсутствие случаев обнаружения высоковирулентных изолятов вируса гриппа в дикой популяции, среднесрочный прогноз на 2020 г. можно охарактеризовать как «осторожный», поскольку сохраняется угроза заноса вируса на территорию страны с перелетными птицами. Дальнейшее распространение вирусов гриппа птиц H5Nx, возможность возникновения эпизоотии и интенсивность эпизоотического процесса будут зависеть от прямых и косвенных контактов диких птиц-вирусоносителей с домашними.

[2] Котельников Г. А. Гельминтологические исследования животных и окружающей среды: справочник. М.: Колос; 1983. 208 с.

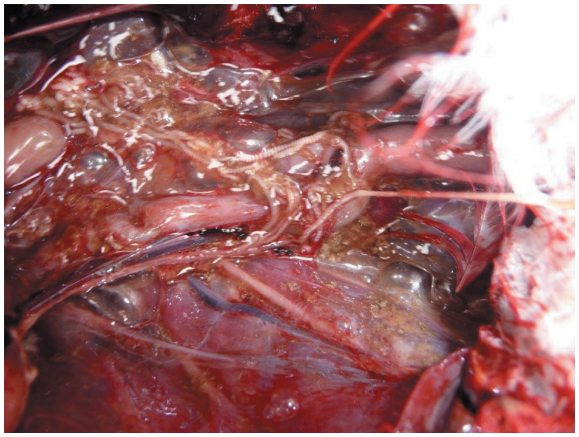


Рис. 5. Цестоды в брюшной полости (чайка серебристая)

Fig. 5. Cestodes in abdominal cavity (European herring gull)

Рис. 6. Нематоды в железистом желудке птиц (чайка серебристая)

Fig. 6. Nematodes in proventriculus (European herring gull)

Рис. 7. Нематоды в мышечном желудке птиц (баклан)

Fig. 7. Nematodes in gizzard (cormorant)

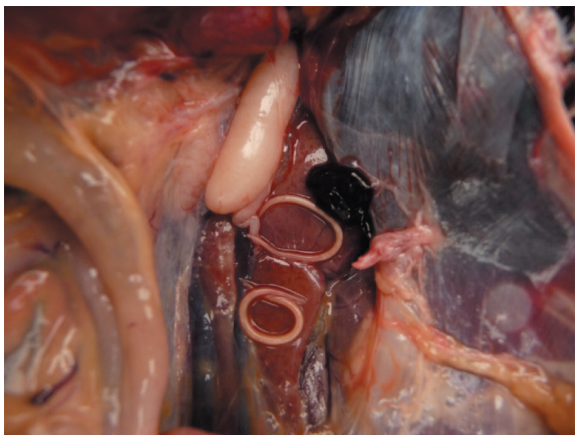


Рис. 8. Нематоды в брюшной полости птиц (чомга)

Fig. 8. Nematodes in abdominal cavity (great-crested grebe)

ВЫВОДЫ

1. Установлена интенсивная инвазия цестодами и нематодами популяции диких перелетных птиц Республики Тыва.

2. Основные патологоанатомические изменения воспалительного характера органов и тканей исследуемых птиц связаны с паразитозами.

3. Обнаружение вируса гриппа птиц подтипа H13N6 и возбудителя ньюкаслской болезни у чаек свидетельствует о циркуляции данных вирусов в популяциях диких птиц, и данное вирусоносительство представляет собой обычное явление.

4. Отсутствие массовой гибели диких птиц и отрицательные результаты лабораторных исследований по высокопатогенному гриппу позволили прогнозировать низкий риск заноса возбудителя из стран Центральной и Юго-Восточной Азии через миграционные пути, проходящие по территории Республики Тыва, в 2017–2019 гг. [5–7].

5. Среднесрочный прогноз на 2020 г. можно охарактеризовать как «осторожный», поскольку наблюдается ухудшение эпизоотической ситуации по гриппу птиц в мире, особенно в европейских странах, и сохраняется угроза заноса вируса на территорию страны с перелетными птицами.

6. Озёра Республики Тыва являются важнейшими точками пробоотбора биоматериала от диких птиц, поскольку первичное обнаружение вируса высокопатогенного гриппа птиц на данных территориях является серьезным сигналом о дальнейшем распространении возбудителя и предвестником возможной эпизоотии.

Рис. 9. Кровоизлияния под кожей головы

Fig. 9. Hemorrhages under head skin

Рис. 10. Кровоизлияния в яйцеводе

Fig. 10. Hemorrhages in oviduct

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. 4 см. REFERENCES)

1. Полевой определитель гусеобразных птиц России. Ред.-сост. Е. Е. Сыроечковский; авт. текста Н. Д. Поярков, А. В. Кондратьев, К. Е. Литвин, и др. М.: Рабочая группа по гусеобразным Северной Евразии; Всероссийский научно-исследовательский ин-т охраны природы; Зоологический музей МГУ; 2011. 223 с.

2. Рябицев В. К. Птицы Урала, Приуралья и Западной Сибири: справочник-определитель. 3-е изд., испр. и доп. Екатеринбург; 2008. 633 с.

3. Ветеринарные правила лабораторной диагностики гриппа А птиц: утв. МСХ РФ от 03.04.2006 № 105 (зарегистрировано в Минюсте РФ 27.04.2006 № 7761). Режим доступа: http://docs.cntd.ru/document/901976707.

5. Волков М. С., Варкентин А. В., Караулов А. К., Гуленкин В. М., Чвала И. А., Ирза В. Н. Прогноз по высокопатогенному гриппу птиц на территории Российской Федерации на 2017 г. *Прогнозы по ряду болезней животных в Российской Федерации на 2017 год*; Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2016; 209–247.

6. Чвала Ил. А., Караулов А. К., Гуленкин В. М., Ирза В. Н. Прогноз по высокопатогенному гриппу птиц на территории Российской Федерации на 2018 г. *Прогнозы по заразным болезням животных в Российской Федерации на 2018 год*. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2018; 209–242.

7. Ирза В. Н., Волков М. С., Варкентин А. В., Гуленкин В. М., Караулов А. К., Андрейчук Д. Б. и др. Прогноз по высокопатогенному гриппу птиц на территории Российской Федерации на 2019 г. *Прогнозы по заразным болезням животных в Российской Федерации на 2019 год*. ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2018; 251–295.

REFERENCES

1. Field identifier of Ansireformes of Russia [Polevoj opredelitel' guseobraznyh ptic Rossii]. Amended and compiled by E. E. Syroyechkovsky; written by N. D. Poyarkov, A. V. Kondratiev, K. E. Litvin, et al. M.: Working Group for Ansireformes of North Eurasia; All-Russian Research Institute of Natural Protection; Zoological Museum of MSU; 2011. 223 p. (in Russian)

2. Ryabitsev V. K. Birds of the Urals, Transurals and West Siberia [Pticy Urala, Priural'ya i Zapadnoj Sibiri]: Handbook. 3rd ed., amended. Yekaterinburg; 2008. 633 p. (in Russian)

3. Veterinary rules of avian influenza A laboratory diagnostics [Veterinarnye pravila laboratornoj diagnostiki grippa A ptic]: approved by RF MoA on 03.04.2006 No. 105 (registered in the Ministry of Justice on 27.04.2006 No. 7761). Available at: http://docs.cntd.ru/document/901976707. (in Russian)

4. Pathak A. P., Murugkar H. V., Nagarajan S., Sood R., Tosh C., Kumar M., et al. Survivability of low pathogenic (H9N2) avian influenza virus in water in the presence of *Atyopsis moluccensis* (Bamboo shrimp). *Zoonoses Public Health*. 2018; 65 (1):e124–e129. DOI: 10.1111/zph.12420.

5. Volkov M. S., Varkentin A. V., Karaulov A. K., Gulenkin V. M., Chvala I. A., Irza V. N. Highly pathogenic avian influenza forecast in the Russian Federation for 2017 [Prognoz po vysokopatogennomu grippu ptic na territorii Rossijskoj Federacii na 2017 g.]. *In: Forecasts for several animal diseases in the Russian Federation for 2017*; Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2016; 209–247. (in Russian)

6. Chvala Il. A., Karaulov A. K., Gulenkin V. M., Irza V. N. Highly pathogenic avian influenza forecast in the Russian Federation for 2018 [Prognoz po vysokopatogennomu grippu ptic na territorii Rossijskoj Federacii na 2018 g.]. *In: Forecasts for contagious animal diseases in the Russian Federation for 2018*; Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2018; 209–242. (in Russian)

7. Irza V. N., Volkov M. S., Varkentin A. V., Gulenkin V. M., Karaulov A. K., Andreychuk D. B., et al. Highly pathogenic avian influenza forecast in the Russian Federation for 2019 [Prognoz po vysokopatogennomu grippu ptic na territorii Rossijskoj Federacii na 2019 g.]. *In: Forecasts for contagious animal diseases in the Russian Federation for 2019*; Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2018; 251–295. (in Russian)

Поступила 20.03.2020
Принята в печать 07.05.2020

Received on 20.03.2020
Approved for publication on 07.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Волков Михаил Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Ирза Виктор Николаевич, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник ИАЦ ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Варкентин Андрей Владимирович, кандидат ветеринарных наук, руководитель сектора ИАЦ ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Роголев Сергей Владимирович, инспектор территориального управления РСХН по Республикам Хакасия и Тыва и Кемеровской области, г. Кызыл, Республика Тыва, Россия.

Андриясов Артем Валерьевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Mikhail S. Volkov, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Epizootology and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Viktor N. Irza, Doctor of Sciences (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Andrey V. Varkentin, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), Head of Sector, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Sergey V. Rogolyov, Inspector of the Rosselkhoznadzor Administration for the Republics of Khakassia and Tyva and Kemerovo Oblast, Kyzyl, Republic of Tyva, Russia.

Artyom V. Andriyasov, Candidate of Sciences (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

УДК 619:616.98:579.887.111:616-078:616-097(470)
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-89-93

Мониторинг микоплазмозов птиц в Российской Федерации в 2019 году

А. Э. Меньщикова[1], Т. Н. Брундакова[2], М. С. Волков[3], В. Н. Ирза[4]
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия
[1] *ORCID 0000-0002-2736-3130, e-mail: menschikova@arriah.ru*
[2] *ORCID 0000-0002-6648-3338, e-mail: brundakova@arriah.ru*
[3] *ORCID 0000-0002-8819-0720, e-mail: volkov_ms@arriah.ru*
[4] *ORCID 0000-0001-7489-1772, e-mail: irza@arriah.ru*

РЕЗЮМЕ
Микоплазмозы в условиях интенсивного ведения птицеводства и высокой концентрации поголовья птицы на ограниченной территории наносят промышленному птицеводству значительный экономический ущерб. Наибольший интерес представляют респираторный микоплазмоз и инфекционный синовит птиц, возбудителями которых являются *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae* соответственно. Поскольку оба заболевания включены в список нотифицируемых болезней Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), необходим постоянный контроль за их распространением. В статье представлен анализ результатов серологических исследований на предмет выявления антител к возбудителям микоплазмозов птиц за 2019 г. При тестировании 2401 пробы сывороток крови кур методом иммуноферментного анализа было выявлено 6 проб, положительных на респираторный микоплазмоз птиц, и 129 проб, положительных на инфекционный синовит. Результаты мониторинговых исследований проб, поступивших из 31 птицеводческого хозяйства 9 субъектов Российской Федерации, свидетельствуют о снижении количества инфицированных *Mycoplasma gallisepticum* стад и стабильной ситуации по *Mycoplasma synoviae*. Улучшение эпизоотической ситуации по респираторному микоплазмозу на птицефабриках закрытого типа может быть связано с комплектованием родительских промышленных стад из благополучных по данному заболеванию источников, изменением санитарно-гигиенических условий, ликвидацией факторов, провоцирующих заболевание, а также с применением средств специфической профилактики в родительских стадах бройлерного производства. Ситуация по распространению инфекционного синовита остается напряженной, несмотря на уменьшение количества хозяйств, инфицированных *Mycoplasma synoviae*, по сравнению с результатами мониторинга 2015–2018 гг. Наибольшее количество серопозитивных стад выявлено в хозяйствах яичного направления продуктивности, их удельный вес в 2019 г. составил 50,0%. Для более полного отражения ситуации по распространению данных инфекций в промышленном птицеводстве России представляется целесообразным в 2020 г. увеличение объема исследований и количества обследованных хозяйств.

Ключевые слова: серологический мониторинг, респираторный микоплазмоз (*Mycoplasma gallisepticum*), инфекционный синовит (*Mycoplasma synoviae*), иммуноферментный анализ, специфические антитела.

Благодарность: Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования при проведении государственного эпизоотологического мониторинга (приказ Россельхознадзора № 1519 от 28.12.2018).

Для цитирования: Меньщикова А. Э., Брундакова Т. Н., Волков М. С., Ирза В. Н. Мониторинг микоплазмозов птиц в Российской Федерации в 2019 году. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 89–93. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-89-93.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Меньщикова Анжелика Эдуардовна, кандидат биологических наук, руководитель сектора серомониторинга лаборатории эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, *e-mail: menschikova@arriah.ru.*

UDC 619:616.98:579.887.111:616-078:616-097(470)

Avian mycoplasmosis monitoring in the Russian Federation in 2019

A. E. Menshchikova[1], T. N. Brundakova[2], M. S. Volkov[3], V. N. Irza[4]
FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia
[1] *ORCID 0000-0002-2736-3130, e-mail: menschikova@arriah.ru*
[2] *ORCID 0000-0002-6648-3338, e-mail: brundakova@arriah.ru*
[3] *ORCID 0000-0002-8819-0720, e-mail: volkov_ms@arriah.ru*
[4] *ORCID 0000-0001-7489-1772, e-mail: irza@arriah.ru*

SUMMARY
Under the conditions of intensive poultry farming and high concentration of poultry in a limited area mycoplasmoses cause significant economic damage to commercial poultry farming. Of greatest interest are respiratory mycoplasmosis and infectious synovitis, the causative agents of which are *Mycoplasma gallisepticum*

and *Mycoplasma synoviae*, respectively. Considering that both diseases are included in the OIE list of notifiable diseases, it is necessary to perform constant control for their spread. The paper presents an analysis of serological test results for antibodies to mycoplasmosis agents in 2019. Six respiratory mycoplasmosis positive samples – and 129 infectious synovitis positive samples were detected when testing 2,401 chicken serum samples by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The results of monitoring tests of samples received from 31 poultry farms (nine RF Subjects) indicate a decrease in the number of *Mycoplasma gallisepticum*-infected stocks and stable *Mycoplasma synoviae* situation. The respiratory mycoplasmosis epidemic situation on indoor poultry farms might have improved due to obtaining the poultry for commercial parent stocks from mycoplasmosis-free sources, better sanitary and hygienic conditions, elimination of the disease provoking factors, and the use of the disease-specific means of prevention in the parent broiler stocks. The infectious synovitis situation remains tense despite the fact that the number of M*ycoplasma synoviae*-infected farms decreased in comparison with the monitoring results for 2015–2018. Most seropositive stocks were detected on the layer farms (50.0% – in 2019). It seems appropriate to increase the amount of tests to be performed and the number of farms covered by testing in 2020 to more fully present the disease spread situation in commercial poultry farming in Russia.

Key words: serological monitoring, respiratory mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*), infectious synovitis (*Mycoplasma synoviae*), enzyme-linked immunosorbent assay, specific antibodies.

Acknowledgements: This research was performed as part of government funding within official epidemiological monitoring (the Rosselkhoznadzor order No. 1519 of 28.12.2018).

For citation: Menshchikova A. E., Brundakova T. N., Volkov M. S., Irza V. N. Avian mycoplasmosis monitoring in the Russian Federation in 2019. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 89–93. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-89-93.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Angelica E. Menshchikova, Candidate of Science (Biology), Head of Seromonitoring Sector, Laboratory for Epizootology and Monitoring, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, *e-mail: menschikova@arriah.ru*.

ВВЕДЕНИЕ

Болезни микоплазменной этиологии являются значимой и актуальной проблемой в птицеводстве. Для ветеринарной медицины наибольший интерес представляют *Mycoplasma gallisepticum*, вызывающая респираторный микоплазмоз, и *Mycoplasma synoviae*, являющаяся возбудителем инфекционного синовита птиц [1–3].

Клинически заболевания проявляются расстройствами функций органов дыхания (одышкой, кашлем, синуситами, хрипами), конъюнктивитами, тендинитами, потерей аппетита, снижением веса и яйценоскости (рис. 1–4) [4, 5]. Микоплазмоз, как правило, осложняется вторичными инфекциями вирусной и бактериальной этиологии. Чаще всего возбудителями таких инфекций являются вирусы инфекционного бронхита (IBV), инфекционного ларинготрахеита (ILTV), пневмовирус птиц (APV), *Escherichia coli*, *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) и др. [2, 6].

Рис. 1. Синдром стекловидной вершины яйца при инфекционном синовите

Fig. 1. Eggshell apex abnormalities associated with infectious synovitis

В странах с развитым промышленным птицеводством микоплазмоз птиц вызывает значительный экономический ущерб, обусловленный вынужденным убоем, снижением яичной (до 30%) и мясной (до 16%) продуктивности, выбраковкой молодняка и взрослой птицы [7–9].

Ввиду высокого потенциала к широкому распространению микоплазмозов с племенным материалом (инкубационным яйцом и суточными цыплятами) при экспортно-импортных операциях заболевания отнесены к категории экономически значимых [10, 11].

Большинство методов, позволяющих определять уровень антител к *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae* в сыворотках крови кур, основано на иммуноферментном анализе (ИФА). Достоинствами метода является высокая чувствительность, специфичность, возможность проведения масштабных исследований, оперативность проведения анализов, небольшие объемы исследуемых проб и возможность автоматизации практически всех стадий выполнения реакции, включая регистрацию и обработку полученных результатов.

Поскольку респираторный микоплазмоз и инфекционный синовит включены в список нотифицируемых болезней Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) и требуют постоянного контроля за их распространением, в ФГБУ «ВНИИЗЖ» уже много лет проводится работа по мониторингу данных заболеваний.

Основной целью данной работы стал анализ результатов серологического мониторинга племенных птицеводческих хозяйств Российской Федерации на микоплазмозы птиц в 2019 г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Диагностические наборы. При проведении исследований использовали «Набор для определения антител к *Mycoplasma gallisepticum* иммуноферментным методом при тестировании сывороток в одном разведении» и «Набор для выявления антител к *Mycoplasma synoviae* иммуноферментным методом при тестировании сывороток в одном разведении» (изготовитель – ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Растворы и реактивы. Для приготовления растворов использовали бидистиллированную воду с pH 6,0 и удельной электропроводностью 0,5 S/см. При постановке ИФА применяли: буферный раствор (конц.) для разведения контрольных и испытуемых сывороток и антивидового конъюгата; буферный раствор (конц.) для межэтапных промывок от несвязавшихся компонентов; антивидовой иммунопероксидазный конъюгат против Ig кур; субстрат – раствор АБТС (2,2-азинобди(3-этилбензотиазолин-6-сульфоновая кислота); стоп-раствор – 5%-й раствор додецилсульфата натрия (раствор для остановки реакции).

Оборудование: морозильник Indesit DF 4180 W (Россия); холодильник Bosch (Германия); холодильник Indesit 4180 W (Россия); шкаф сушильный LP-309 (Россия); термостат воздушный ТВ-20 ПЗ-«К» (Россия); базовый pH-метр Sartorius PB-11 (Германия); дозаторы механические переменного объема Biohit (Финляндия), Socorex (Швейцария); автоматический ридер ELx800 (США); компьютер VCT (Россия); гигрометр психрометрический «ВИТ-1» (Россия); прибор комбинированный Testo 608-H1 (Китай); термометр цифровой (логгер) Testo-174T (Германия); секундомер СДСпр-1-2-000 (Россия).

Материал для исследования: сыворотки крови кур разных возрастных групп, поступившие из птицехозяйств Российской Федерации. Наряду с сыворотками от племенного поголовья и родительских стад исследовали сыворотки крови от птиц промышленных стад с целью объективной оценки ситуации по микоплазмозам.

Статистический анализ данных. Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы Statistica for Windows (USA, Release 4,3; Inc., 1993). Учет результатов, обработку, хранение и анализ полученных данных проводили с использованием компьютерной программы «СИНКО-ИФА», разработанной в ФГБУ «ВНИИЗЖ».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении мониторинга микоплазменных инфекций птиц основной задачей было выявление антител к возбудителям респираторного микоплазмоза и инфекционного синовита в диагностически значимых титрах, при этом ключевыми объектами мониторинга были родительские и прародительские стада кур (племенное поголовье).

В 2019 г. в рамках мониторинговых исследований проведен 2041 тест в ИФА.

Образцы сывороток крови поступили из 31 птицеводческого хозяйства 9 субъектов Российской Федерации. В результате лабораторных исследований были выявлены специфические антитела к микоплазмозам птиц: 6 положительных проб на *Mycoplasma gallisepticum* (0,58%) и 129 – на *Mycoplasma synoviae* (12,64%).

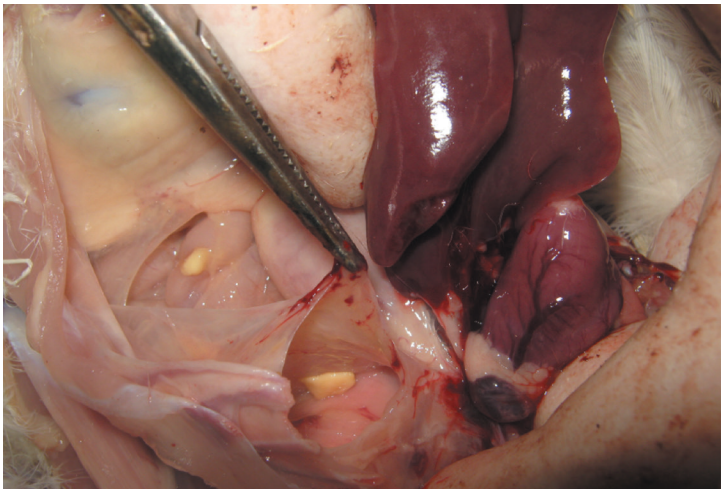


Рис. 2. Аэросаккулит – патогномоничный признак респираторного микоплазмоза

Fig. 2. Airsacculitis – pathognomonic characteristic of respiratory mycoplasmosis

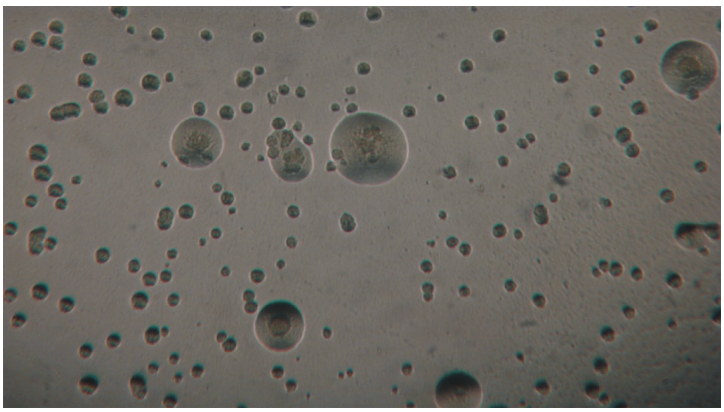


Рис. 3. Колонии Mycoplasma gallisepticum на плотной среде

Fig. 3. Mycoplasma gallisepticum colonies in dense medium

Рис. 4. Катарально-фибринозный синусит при респираторном микоплазмозе

Fig. 4. Catarrhal and fibrous sinusitis associated with respiratory mycoplasmosis

Определение серологического статуса хозяйств по респираторному микоплазмозу

При исследовании сывороток крови кур, поступивших из 12 птицеводческих хозяйств яичного направления, серопозитивными на респираторный микоплазмоз были пробы, доставленные из 2 птицефабрик, что составило 16,7% от общего количества. Также серопозитивные пробы были обнаружены на одном из 19 птицеводческих предприятий бройлерного направления, что составило 5,26% от общего количества.

Распределение титров антител к *Mycoplasma gallisepticum* в исследованных пробах в зависимости от возраста птиц показано в таблице 1.

Незначительное присутствие антител к *Mycoplasma gallisepticum* у кур яичного направления наблюдалось при исследовании сывороток крови, отобранной от птиц в возрасте более 300 сут (3,3%), что указывает на циркуляцию возбудителя данного заболевания в стаде.

Низкий уровень антител к возбудителю респираторного микоплазмоза у птицы мясного направления до 40-суточного возраста свидетельствует о чистоте родительских стад. Начиная с 130-суточного возраста количество серопозитивных особей увеличивается незначительно. Следует отметить, что улучшение эпизоотической ситуации по респираторному микоплазмозу на птицефабриках закрытого типа может быть связано с комплектованием родительских промышленных стад из благополучных по данному заболеванию источников.

Снижение количества позитивных птиц и уровня антител с увеличением возраста говорит об улучшении санитарно-гигиенических условий на площадках и ликвидации факторов, провоцирующих заболевание. Так, по результатам мониторинга прошлых лет (2012–2017 гг.), количество взрослых (более 300 сут) положительно реагирующих птиц было значительно выше и доходило до 40%.

Определение серологического статуса хозяйств по инфекционному синовиту

Для исследований на инфекционный синовит образцы сыворотки крови поступали из 12 птицехозяйств яичного направления, по шести из них получены серопозитивные пробы, что составило 50% от общего количества. Также серопозитивными были пробы по одной из 17 птицефабрик бройлерного направления, что составило 5,9% от общего количества.

Таблица 1
Уровень антител к *Mycoplasma gallisepticum* по возрастным группам на птицефабриках РФ яичного и бройлерного направления

Table1
Level of antibodies to *Mycoplasma gallisepticum* distributed by age groups on layer and broiler poultry farms in the Russian Federation

Возрастная группа, сут	Яичное направление		Бройлерное направление	
	Количество положительных/ исследованных проб	Титр в ИФА	Количество положительных/ исследованных проб	Титр в ИФА
11–40	н/и	н/и	2/25 (8%)	1305 ± 14
131–200	0/10 (0%)	0	3/25 (12%)	1135 ± 20
201–300	0/10 (0%)	0	н/и	н/и
Более 300	1/30 (3,3%)	2370 ± 25	н/и	н/и

н/и – не исследовали (not tested).

Распределение титров антител к *Mycoplasma synoviae* в исследованных пробах в зависимости от возраста птиц представлено в таблице 2.

Присутствие специфических антител к *Mycoplasma synoviae* у птицы яичного направления в возрасте 41–60 сут (32%) указывает на циркуляцию в стаде возбудителя инфекционного синовита, который, вероятно, был передан трансовариальным путем от родительского стада кур. Возрастание титров антител после перевода ремонтного молодняка в промышленное или родительское стадо (130 сут) свидетельствует о контакте птицы с возбудителем полевой инфекции. Учитывая данные ретроспективного анализа, следует подчеркнуть, что ситуация по инфекционному синовиту, в отличие от респираторного микоплазмоза, продолжает оставаться напряженной, хотя и имеет тенденцию к улучшению. Так, в 2018 г. удельный вес инфицированных хозяйств составил 57,1%, в 2017 г. – 66,7%, в 2016 г. – 78,6%, а в 2015 г. – 90,32%.

Из представленных в таблице 2 данных видно, что ситуация по инфекционному синовиту в промышленном птицеводстве мясного направления является аналогичной. Следует отметить, что уровень специфических антител к возбудителю инфекционного синовита до перевода птиц в продуктивное стадо является диагностически малозначимым, однако с возрастом птицы наблюдается увеличение титров, что может быть связано с активацией латентной инфекции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований была выявлена тенденция к заметному снижению количества инфицированных *Mycoplasma gallisepticum* стад. Серопревалентность к возбудителю респираторного микоплазмоза птиц в 2019 г. в хозяйствах яичного направления продуктивности составила 16,7%, что ниже по сравнению с 2018 г. на 21,3%. Стабилизация эпизоотической ситуации может быть связана с комплектованием стад из благополучных источников, с улучшением санитарных условий в хозяйствах, ликвидацией стресс-факторов, применением адекватной антибиотикотерапии. Известно, что специфическая профилактика в родительских стадах бройлерного производства уменьшает трансовариальную передачу возбудителя, поэтому ее применение также могло способствовать улучшению эпизоотической ситуации по заболеванию.

Несмотря на некоторое улучшение эпизоотической ситуации по M*ycoplasma synoviae* по сравнению с результатами мониторинга 2015–2018 гг. и с учетом ежегодной однородности мониторинга в хозяйствах, тем не менее ситуация по распространению инфекционного синовита остается напряженной. Наибольшее количество серопозитивных стад выявлено в хозяйствах яичного направления продуктивности, их удельный вес в 2019 г. составил 50,0%. Однако птицефабрики сохраняют высокие производственные показатели ввиду бессимптомного течения инфекции, что главным образом связано с профилактикой технологических и кормовых стрессов, препятствующей клиническому проявлению заболевания.

Учитывая включение респираторного микоплазмоза и инфекционного синовита птиц в список нотифицируемых болезней МЭБ по причине их трансграничного распространения с племенной продукцией, представляется целесообразным в 2020 г. увеличение объема

исследований и количества обследованных хозяйств для более полного отражения ситуации по распространению данных инфекций в промышленном птицеводстве России.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 5, 9–11 см. REFERENCES)

1. Борхсениус С. Н., Чернова О. А. Микоплазмы. *Цитология*. 1987; 29 (4): 379–390.

2. Борхсениус С. Н., Чернова О. А. Микоплазмы: молекулярная и клеточная биология, патогенность, диагностика. Л.: Наука, 1989. 156 с.

3. Инструкция о мероприятиях по борьбе с респираторным микоплазмозом птиц: утв. ГУВ МСХ СССР 28 ноября 1969 г. Режим доступа: http://www.libussr.ru/doc_ussr/usr_7199.htm.

4. Респираторный микоплазмоз птиц. В кн.: Микоплазмозы животных. Под ред. акад. Я. Р. Коваленко. М.: Колос; 1976; 225–256.

6. Коровин Р. Н., Зеленский В. П., Грошева Г. А. Лабораторная диагностика болезней птиц: справочник. М.: Агропромиздат; 1989; 172–174.

7. Инфекционная патология животных: руководство. Т. 6: Микоплазмозы. Сост. А. Я. Самуйленко. М.: ВНИТИБП; 2010. 276 с.

8. Фосс М., Филипп Х. После вспышки микоплазмы галлисептикум. *Животноводство России*. 2008; 4: 51.

REFERENCES

1. Borchsenius S. N., Chernova O. A. Mycoplasmas [Mikoplazmy]. *Cell and Tissue Biology*. 1987; 29 (4): 379–390. (in Russian)

2. Borchsenius S. N., Chernova O. A. Mycoplasmas: molecular and cellular biology, pathogenicity, diagnostics [Mikoplazmy: molekulyarnaya i kletochnaya biologiya, patogennost', diagnostika]. L.: Nauka; 1989. 156 p. (in Russian)

3. Instructions on measures for respiratory mycoplasmosis control in birds [Instrukciya o meropriyatiyah po bor'be s respiratornym mikoplazmozom ptic]: approved by the Vet. Dep., USSR MoA, November 28, 1969. Available at: http://www.libussr.ru/doc_ussr/usr_7199.htm. (in Russian)

4. Avian respiratory mycoplasmosis [Respiratornyj mikoplazmoz ptic]. *In: Mycoplasmosis in Animals* [Mikoplazmozy zhivotnyh]. Ed. by Ya. R. Kovalenko. M.: Kolos; 1976; 225–256. (in Russian)

5. Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). *In: OIE. Terrestrial Animal Health Code. Vol. 2. Recommendations applicable to OIE Listed diseases and other diseases of importance to international trade.* 2019. Available at: https://www.oie.int/index.php?id=169&L=0&htmfile=chapitre_mycoplasma_gallisepticum.htm.

6. Korovin R. N., Zelensky V. P., Grosheva G. A. Laboratory diagnosis of avian diseases [Laboratornaya diagnostika boleznej ptic]: Reference guide. M.: Agropromizdat; 1989; 172–174. (in Russian)

7. Infectious pathology of animals: Manual. Vol. 6: Mycoplasmoses [Infekcionnaya patologiya zhivotnyh: rukovodstvo. T. 6: Mikoplazmozy]. Drafted by A. Ya. Samuilenko. M.: VNITIBP; 2010. 276 p. (in Russian)

Таблица 2
Уровень антител к *Mycoplasma synoviae* по возрастным группам на птицефабриках РФ яичного и бройлерного направления

Table 2
Level of antibodies to *Mycoplasma synoviae* distributed by age groups on layer and broiler poultry farms in the Russian Federation

Возрастная группа, сут	Яичное направление		Бройлерное направление	
	Количество положительных/ исследованных проб	Титр в ИФА	Количество положительных/ исследованных проб	Титр в ИФА
1–10	н/и	н/и	4/25 (16%)	1289 ± 109
11–40	н/и	н/и	11/50 (22%)	1822 ± 306
41–60	8/25 (32%)	2416 ± 102	н/и	н/и
61–130	н/и	н/и	н/и	н/и
131–200	11/55 (20%)	1288 ± 198	н/и	н/и
201–300	5/10 (50%)	1796 ± 240	н/и	н/и
Более 300	90/225 (40%)	2381 ± 306	н/и	н/и

н/и – не исследовали (not tested).

8. Foss M., Philip H. After the outbreak of *Mycoplasma gallisepticum* [Posle vspyshki mikoplazmy gallisepticum]. *Animal Husbandry in Russia* [*Zhivotnovodstvo Rossii*]. 2008; 4: 51. (in Russian)

9. Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*, *M. synoviae*). *In: OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2018; Chap. 3.3.5: 844–859. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.05_%20AVIAN_MYCO.pdf.

10. Epidemiology of *Mycoplasma* infection. *Poultry International*. 2007; 15 (1): 28.

11. Gautier-Bouchardon A. V., Reinhardt A. K., Kobisch M., Kempf I. *In vitro* development of resistance to enrofloxacin, erythromycin, tylosin, tiamulin and oxytetracycline in *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma iowae* and *Mycoplasma synoviae*. *Vet. Microbiol*. 2002; 88 (1): 47–58. DOI: 10.1016/s0378-1135(02)00087-1.

Поступила 21.02.2020
Принята в печать 18.05.2020

Received on 21.02.2020
Approved for publication on 18.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Меньщикова Анжелика Эдуардовна, кандидат биологических наук, руководитель сектора серомониторинга лаборатории эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Angelica E. Menshchikova, Candidate of Science (Biology), Head of Seromonitoring Sector, Laboratory for Epizootology and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Брундакова Татьяна Николаевна, ведущий биолог лаборатории эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Tatiana N. Brundakova, Leading Biologist, Laboratory for Epizootology and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Волков Михаил Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Mikhail S. Volkov, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Epizootology and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Ирза Виктор Николаевич, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник ИАЦ ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Viktor N. Irza, Doctor of Sciences (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

УДК 619:616.98:578.835.2:616-085.371:616-076
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-94-101

Изучение формирования раннего иммунитета у естественно восприимчивых животных против ящура типа О

Д. В. Михалишин[1], Д. А. Лозовой[2], В. А. Стариков[3], Ю. С. Елькина[4], М. И. Доронин[5], А. В. Борисов[6]
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия
[1] *ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru*
[2] *ORCID 0000-0002-5983-7062, e-mail: lozovoy@arriah.ru*
[3] *ORCID 0000-0002-9960-0887, e-mail: starikov@arriah.ru*
[4] *ORCID 0000-0002-2986-8992, e-mail: elkina_ys@arriah.ru*
[5] *ORCID 0000-0002-4682-6559, e-mail: doronin@arriah.ru*
[6] *ORCID 0000-0001-9880-9657, e-mail: borisov_av@arriah.ru*

РЕЗЮМЕ

Риск возникновения вспышек ящура на территории Российской Федерации диктует необходимость усиления противоящурных мероприятий, направленных на предупреждение заноса вируса в страну и включающих проведение систематических мониторинговых исследований, а также осуществление поголовной вакцинации восприимчивых животных в буферной зоне. Исследования по разработке вакцин для ранней защиты подтверждают, что при их использовании происходит выработка вируснейтрализующих антител у естественно восприимчивых животных в зоне вспышки, что служит защитой от заражения ящуром, приводит к сдерживанию инфекции и ее купированию в первичном очаге. Учитывая высокую скорость распространения инфекции, такая мера контроля, как применение вакцин против ящура, обеспечивающих раннюю защиту, должна применяться сразу после вспышки. Представлены результаты исследований по формированию гуморального иммунитета у естественно восприимчивых животных на введение инактивированных эмульсионных противоящурных вакцин, способных обеспечить раннюю защиту против ящура типа О. Для изготовления вакцин использовали культуральный вирус ящура штаммов О/Приморский/2012, О/Саудовская Аравия/08 и О/Монголия/2017. Иммуногенную активность вакцин проверяли на крупном рогатом скоте, свиньях и овцах. Выявлено, что моновалентная эмульсионная противоящурная вакцина из штамма О/Монголия/2017 через 7 сут после однократного введения в дозе 2 см^3 индуцировала выработку вируснейтрализующих антител в количестве, достаточном для защиты от заражения гомологичным штаммом. Вакцины из штаммов вируса ящура О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 при введении двойной дозы способны защитить животных на ранних сроках от заражения гетерологичным штаммом вируса ящура О/Монголия/2017. Вакцинные препараты из указанных штаммов вызывают формирование иммунитета в ранние сроки (на 7-е сут после вакцинации) против ящура типа О. Данные препараты предлагается использовать в зонах повышенного риска заноса вируса.

Ключевые слова: ящур типа О, инактивированная моновалентная эмульсионная вакцина, ранняя защита, реакция нейтрализации.

Благодарность: Работа выполнена за счет средств по государственному контракту № 25/19 по теме «Выполнение научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ по созданию новых защитных препаратов на основе циркулирующих вновь выделенных изолятов особо опасных и экзотических инфекций животных и их испытание».

Для цитирования: Михалишин Д. В., Лозовой Д. А., Стариков В. А., Елькина Ю. С., Доронин М. И., Борисов А. В. Изучение формирования раннего иммунитета у естественно восприимчивых животных против ящура типа О. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 94–101. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-94-101.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Доронин Максим Игоревич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, *e-mail: doronin@arriah.ru.*

UDC 619:616.98:578.835.2:616-085.371:616-076

Studies on development of early immunity against type O FMD in naturally susceptible animals

D. V. Mikhalishin[1], D. A. Lozovoy[2], V. A. Starikov[3], Yu. S. El'kina[4], M. I. Doronin[5], A. V. Borisov[6]
FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia
[1] *ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru*
[2] *ORCID 0000-0002-5983-7062, e-mail: lozovoy@arriah.ru*
[3] *ORCID 0000-0002-9960-0887, e-mail: starikov@arriah.ru*
[4] *ORCID 0000-0002-2986-8992, e-mail: elkina_ys@arriah.ru*
[5] *ORCID 0000-0002-4682-6559, e-mail: doronin@arriah.ru*
[6] *ORCID 0000-0001-9880-9657, e-mail: borisov_av@arriah.ru*

SUMMARY

FMD risk in the Russian Federation dictates the need for enhanced measures aiming to prevent the introduction of FMD virus and comprising systematic monitoring research and mass vaccination of susceptible animals in the buffer zone. Research into the development of vaccines for early protection confirm that their use induces the formation of virus-neutralizing antibodies in naturally susceptible animals in the outbreak area, which protects from FMD infection, limits its spread and contains it within the primary outbreak. Taking into account the high speed of the infection spread, such a control measure as using FMD vaccines which induce early protection should be adopted immediately after the occurrence of the outbreak. The article presents the results of the research into the formation of humoral immunity in naturally susceptible animals triggered by administration of inactivated emulsion FMD vaccines capable of ensuring early protection against type O FMD. Culture FMD virus of O/Primorsky/2012, O/Saudi Arabia/08 and O/Mongolia/2017 strains was used for vaccine production. Immunogenic activity of vaccines was tested in cattle, pigs, and sheep. It was found that monovalent emulsion FMD vaccine based on O/Mongolia/2017 strain induced the formation of virus-neutralizing antibodies in the quantity necessary to protect against the homologous strain in seven days after a single administration in the dose of 2 cm^3. Vaccines based on O/Saudi Arabia/08 and O/Primorsky/2012 FMDV strains can protect animals from infection with heterologous O/Mongolia/2017 strain at early stages if a double dose is administered. Vaccines based on the above-mentioned strains induce early immunity formation (seven days after vaccination) against type O FMD. We suggest using the given products in the zones of a higher risk of the virus introduction.

Key words: type O FMD, inactivated monovalent emulsion vaccine, early protection, virus neutralization test.

Acknowledgements: The work was financed under the Governmental Contract 25/19: Research and experimental activities for the development of protective products based on newly isolated currently circulating agents of highly dangerous and exotic animal infections and their testing.

For citation: Mikhalishin D. V., Lozovoy D. A., Starikov V. A., El'kina Yu. S., Doronin M. I., Borisov A. V. Studies on development of early immunity against type O FMD in naturally susceptible animals. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 94–101. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-94-101.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Maksim I. Doronin, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, *e-mail: doronin@arriah.ru.*

ВВЕДЕНИЕ

Ящур является экономически значимым вирусным заболеванием диких и домашних парнокопытных животных из-за наличия большого количества естественно восприимчивых видов, существенного влияния на продуктивность животных и быстрого распространения внутри и между соседними географическими регионами. Вспышки ящура приводят к большим экономическим потерям в результате огромных затрат на проведение санитарных мероприятий, направленных на искоренение заболевания [1–3].

В настоящее время в хозяйствах многих стран, даже с проинформированными об опасности заболевания владельцами скота и обученным персоналом ветеринарных служб, вспышки ящура могут по-прежнему оставаться незамеченными до тех пор, пока болезнь не распространится за пределы первичного очага. Данная ситуация складывается из-за отсутствия идентификации клинических признаков ящура, при задержке или отсутствии информации о заболевших животных, а также из-за незаконного перемещения скота или зараженных продуктов животного происхождения [4, 5].

В период с сентября 2017 г. по март 2018 г. в нескольких аймаках Монголии, граничащей на севере с Россией, а на юге с Китаем, было зарегистрировано около 30 вспышек ящура типа О у крупного рогатого скота, овец и коз. Риск возникновения вспышек заболевания на территории РФ диктует необходимость усиления противоящурных мероприятий, направленных на предупреждение заноса вируса в страну и включающих проведение систематических мониторинговых исследований, а также осуществление поголовной вакцинации восприимчивых животных в буферной зоне [4, 6, 7]. Учитывая высокую скорость распространения инфекции, сразу после вспышки необходимо применять вакцины против ящура, обеспечивающие раннюю защиту животных.

За многие десятилетия доказана высокая эффективность и неоспоримая польза вакцин в борьбе с инфекционными заболеваниями. Для специфической профилактики ящура широко применяют моно- и поливалентные культуральные инактивированные вакцины [3]. Исследования по разработке вакцин для ранней защиты подтверждают, что при их использовании происходит выработка вируснейтрализующих антител у естественно восприимчивых животных в зоне вспышки, что служит защитой от заражения ящуром, приводит к сдерживанию инфекции и ее купированию в первичном очаге [1, 2, 7].

Цель работы заключалась в исследовании гуморального и протективного иммунитета при формировании ранней защиты у естественно восприимчивых животных в ответ на введение инактивированной эмульсионной противоящурной вакцины из штамма О/Монголия/2017 против гомологичного штамма, а также вакцин из штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 против гетерологичного штамма О/Монголия/2017.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирус. Для изучения гуморального иммунитета применяли гомологичный штамм О/Монголия/2017 и гетерологичные штаммы О/Приморский/2012, О/Саудовская Аравия/08 культурального вируса ящура.

Для контрольного заражения естественно восприимчивых животных применяли адаптированный к этим животным афтозный вирус ящура штамма О/Монголия/2017.

Клеточные линии. Для репродукции вируса использовали монослойные перевиваемые клеточ-

ные линии из почки сибирского горного козерога (ПСГК-30), почки новорожденного сирийского хомячка (ВНК-21). Для оценки титра противоящурных антител и авирулентности антигена после инактивации применяли первичную монослойную культуру клеток из свиной почки (СП).

Животные. В исследованиях использовали: 1) 26 голов крупного рогатого скота (КРС) голштино-фризской породы массой 250–300 кг; 2) 16 свиней различных пород массой 30–40 кг; 3) 4 овцы романовской породы массой 20–30 кг.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными (ГОСТ 33216-2014), принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2012 по охране животных, используемых в научных целях.

Инактивация вируса, очистка и концентрирование антигена. Инактивацию вируса ящура проводили с помощью раствора аминоэтилэтиленимина (АЭЭИ). Для очистки антигена от балластных белков, в том числе неструктурных протеинов, применяли раствор полигексаметиленгуанидина (ПГМГ). Концентрирование проводили методом ультрафильтрации в тангенциальном потоке.

Определение компонентного состава инактивированной суспензии. В инактивированной суспензии количество иммуногенных компонентов оценивали в соответствии с «Методическими рекомендациями по определению концентрации 146S, 75S, 12S компонентов вакцинных штаммов культурального вируса ящура в реакции связывания комплемента (РСК)» [8].

Подбор адъюванта и соотношения «антиген – адъювант». Для изготовления моновалентных эмульсионных вакцин против ящура в качестве адъюванта был выбран Montanide ISA 206 VG, поскольку из литературных источников известно, что он способствует выработке антител на 4–7-е сут после иммунизации [5, 9]. Соотношение антигена и адъюванта составляло 50:50.

Вакцины. Для исследования иммуногенной активности эмульсионных противоящурных вакцин было изготовлено 3 образца, которые применяли однократно внутримышечно в дозе 2 см^3, и в двойной дозе – внутримышечно в две точки по 2 см^3.

Первая вакцина содержала штамм вируса ящура О/Монголия/2017. В двойной дозе (4 см^3) количество 146S компонента составляло 24,22 мкг, а в одной дозе (2 см^3) – 12,11 мкг.

Вторая вакцина включала в состав штамм вируса ящура О/Саудовская Аравия/08 с содержанием 146S компонента в дозе 4 см^3 – 30,1 мкг.

Третья вакцина включала в состав штамм О/Приморский/2012 с количеством 146S частиц в двойной дозе (4 см^3), равным 29,2 мкг.

Контрольное заражение. Через 7 сут после вакцинации проводили контрольное заражение животных адаптированным вирусом ящура штамма О/Монголия/2017. Заражение осуществляли в слизистую языка в дозе 10^4 ИД$_{50}$/0,20 см^3 (в две точки по 0,10 ± 0,05 см^3).

Отбор крови. Через 4 и 7 сут после вакцинации у животных отбирали кровь для исследования.

Определение титра вируснейтрализующих антител. Количество вируснейтрализующих антител (ВНА) в пробах сыворотки крови определяли в реакции нейтрализации (РН) с использованием монослоя культуры клеток СП по общепринятой методике [10].

Оценка авирулентности антигена вируса. Авирулентность инактивированного вируса контролировали с помощью инокуляции в монослойную культуру клеток СП.

Оценка иммуногенности вакцины. Иммуногенность вакцины исследовали на КРС и свиньях. На овцах определяли уровень гуморального иммунитета в реакции нейтрализации. Полученные спустя 4 и 7 сут после иммунизации животных сыворотки крови анализировали в РН. Затем КРС и свиней заражали контрольным штаммом О/Монголия/2017 вируса ящура, спустя 7 сут всех животных подвергали эвтаназии и проводили патолого-анатомический осмотр. Защищенными от ящура считали животных, у которых на конечностях отсутствовали поражения. Первичные афты не учитывали.

Статистическая обработка данных. Все измерения проводили в трех повторностях. Полученные результаты статистически обрабатывали, определяя средние арифметические значения, степень достоверности статистической разницы между средними величинами, определенными по разностному методу Стьюдента-Фишера, а также коэффициент детерминации [11]. Построение диаграмм проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе работы проводили иммунизацию свиней моновалентными эмульсионными противоящурными вакцинами из штаммов О/Монголия/2017, О/Приморский/2012, О/Саудовская Аравия/08 с последующей оценкой формирования раннего иммунитета против гомологичных и гетерологичных штаммов. Результаты исследования представлены на рисунке 1.

На рисунке 1 показано, что у животных, иммунизированных вакциной из штамма О/Саудовская Аравия/08, титры антител против гомологичного штамма с 4-х по 7-е сут после вакцинации выросли в 1,3 раза. Титры антител против гетерологичных штаммов вируса ящура О/Приморский/2012 и О/Монголия/2017 на 4-е сут после иммунизации были в 2,1 и в 1,9 раза ниже по сравнению с гомологичным штаммом и составили 1,95 ± 0,10 и 2,05 ± 0,17 $\log_2$ соответственно. На 7-е сут после инокуляции титры ВНА против гетерологичных штаммов О/Приморский/2012 и О/Монголия/2017 были в 2,5 и 2,1 раза ниже, чем против гомологичного, и соответствовали значениям 2,10 ± 0,10 и 2,35 ± 0,10 $\log_2$.

У свиней, привитых вакциной из штамма О/Приморский/2012, количество антител против гомологичного штамма на 4-е сут после иммунизzzzзации составило 3,35 ± 0,17 $\log_2$, против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Монголия/2017 – 2,30 ± 0,22 и 3,25 ± 0,18 $\log_2$. Переведя $\log_2$ в натуральные числа, можно отметить, что на 4-е сут титры антител против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Монголия/2017 были ниже в 2,1 и 1,1 раза соответственно по сравнению с гомологичным штаммом. Различие между уровнем гуморального иммунитета против гомологичного вируса ящура О/Приморский/2012 и гетерологичного штамма О/Монголия/2017

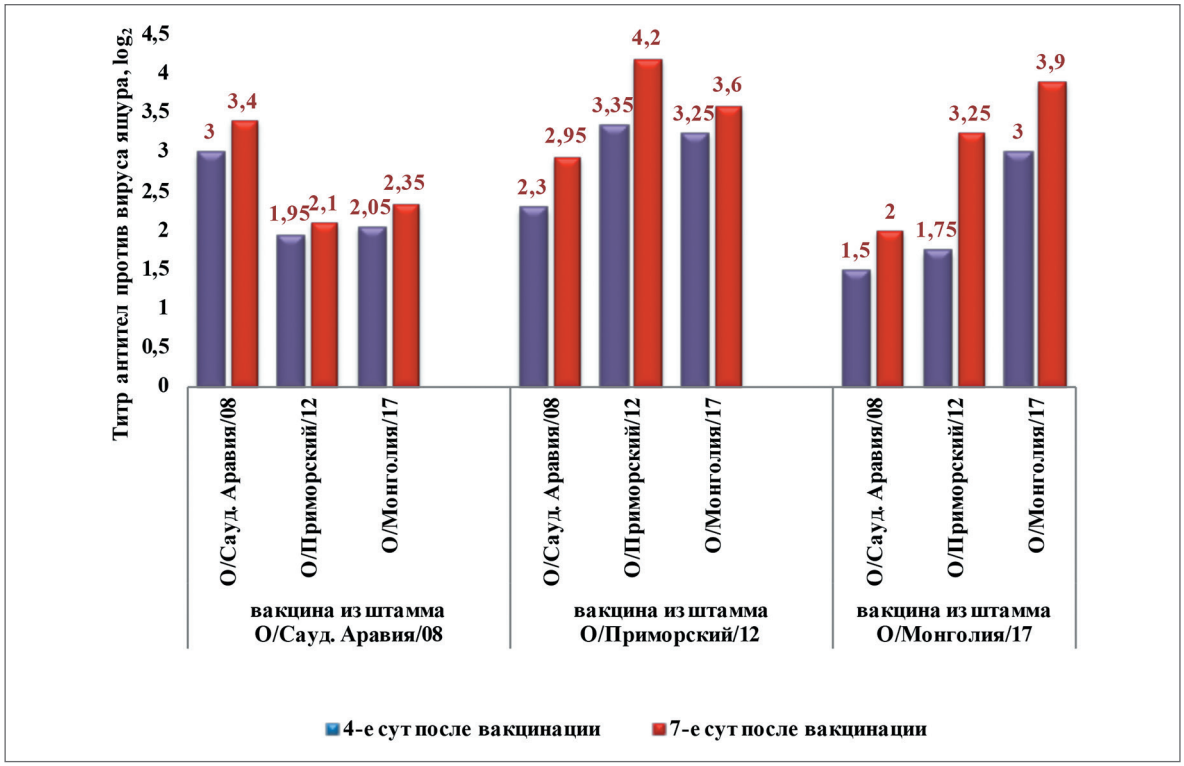


Рис. 1. Динамика образования ВНА у свиней после применения вакцин из штаммов О/Саудовская Аравия/08, О/Приморский/2012 и О/Монголия/2017 в двойной дозе (4 см³) против гомологичных и гетерологичных штаммов вируса ящура на 4-е и 7-е сут после вакцинации

Fig. 1. Dynamics of VNA formation in pigs after use of vaccines based on O/Saudi Arabia/08, O/Primorsky/2012 and O/Mongolia/2017 strains in a double dose (4 cm³) against homologous and heterologous FMDV strains, day 4 and 7 post-vaccination

несущественно. На 7-е сут после иммунизации количество антител против гомологичного штамма было 4,20 ± 0,29 $\log_2$, что в 1,8 раза выше, чем на 4-е сут после вакцинации. Уровень антител на 7-е сут после вакцинации против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Монголия/2017 был ниже в 2,4 и 1,5 раза соответственно.

У свиней, иммунизированных вакциной из штамма О/Монголия/2017, на 4-е и 7-е сут после инокуляции титры антител против гомологичного штамма составили 3,00 ±0 ,36 и 3,90 ± 0,30 $\log_2$ соответственно. На 7-е сут количество антител против гомологичного штамма увеличилось в 1,9 раза. Содержание антител против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 на 4-е сут после вакцинации в сыворотках крови составило 1,50 ± 0,18 и 1,75 ± 0,18 $\log_2$, что в 2,8 и 2,4 раза ниже, чем против гомологичного штамма. На 7-е сут после иммунизации титры ВНА против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 были в 3,7 и 1,6 раза ниже по сравнению с данными для гомологичного штамма и составили 2,00 ± 0,17 и 3,25 ± 0,20 $\log_2$ соответственно.

Как следует из рисунка 1, уровень гуморального иммунитета у свиней, привитых моновалентными противоящурными вакцинами для ранней защиты, повышается к 7-м сут после вакцинации. Изготовленные препараты обладают лучшей иммуногенной активностью преимущественно в отношении гомологичных штаммов. В дальнейших опытах для оценки протективного иммунитета через 7 сут после вакцинации проводили заражение свиней штаммом О/Монголия/2017. В качестве контроля использовали одно невакцинированное животное. Результаты контрольного заражения представлены в таблице 1.

По данным таблицы 1 видно, что у животных, иммунизированных вакцинами из штаммов О/Приморский/2012 и О/Монголия/2017, после контрольного заражения характерных признаков ящура не наблюдалось. Эмульсионная противоящурная вакцина из штамма О/Саудовская Аравия/08 через 7 сут после введения препарата и последующего заражения не обеспечила защиту 1 из 5 голов свиней. Титр ВНА у заболевшего животного составил 2,00 $\log_2$. Контрольное животное также заболело ящуром.

Следующий этап работы был посвящен сравнительному анализу формирования раннего иммунитета у КРС после введения одной и двойной доз моновалентных эмульсионных противоящурных вакцин. Оценивали уровни антител в крови иммунизированных животных против гомологичных и гетерологичных штаммов вируса ящура. Результаты исследования представлены на рисунке 2.

Из данных, представленных на рисунке 2, видно, что при введении КРС моновалентной эмульсионной противоящурной вакцины из штамма О/Монголия/2017 в дозе 2 см³ на 4-е сут титры антител против гомологичного штамма составили 2,83 ± 0,33 $\log_2$, а при иммунизации в дозе 4 см³ – 3,46 ± 0,24 $\log_2$. При введении препарата в дозе 2 см³ на 4-е сут после вакцинации

Таблица 1
Исследование гуморального и протективного иммунитета свиней, вакцинированных двойной дозой инактивированных эмульсионных вакцин против ящура

Table 1
Study of humoral and protective immunity in pigs vaccinated with a double dose of inactivated emulsion vaccines against FMD

Вакцинный штамм	Титры антител против вируса ящура, $\log_2 (M \pm m)$						Результаты заражения штаммом О/Монголия/17 через 7 сут после вакцинации (заражено/защищено)
	4-е сут после вакцинации			7-е сут после вакцинации			
	О/Сауд. Аравия/08	О/Приморский/12	О/Монголия/17	О/Сауд. Аравия/08	О/Приморский/12	О/Монголия/17	
О/Сауд. Аравия/08	3,00 ± 0,38	1,95 ± 0,10	2,05 ± 0,17	3,40 ± 0,36	2,10 ± 0,10	2,35 ± 0,35	5/4
О/Приморский/12	2,30 ± 0,22	3,35 ± 0,17	3,25 ± 0,18	2,95 ± 0,15	4,20 ± 0,29	3,60 ± 0,27	5/5
О/Монголия/17	1,50 ± 0,18	1,75 ± 0,18	3,00 ± 0,36	2,00 ± 0,33	3,25 ± 0,26	3,90 ± 0,30	5/5
Контроль							1/0

содержание антител против гомологичного штамма было в 1,6 раза ниже по сравнению с применением двойной дозы.

На 7-е сут после иммунизации одной дозой уровень ВНА против штамма О/Монголия/2017 составил 4,67 ± 0,23 $\log_2$, а двойной – 5,00 ± 0,21 $\log_2$, что является несущественной разницей. При введении вакцины количество ВНА против гомологичного штамма на 7-е сут увеличилось в 3,6 раза по сравнению с данными, полученными на 4-е сут после введения препарата. При использовании двойной дозы вакцины с 4-х по 7-е сут после иммунизации отмечалось увеличение титра антител против штамма О/Монголия/2017 в 2,9 раза.

При введении вакцины из штамма О/Монголия/2017 в дозе 2 см^3 на 4-е сут после иммунизации КРС уровень ВНА против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 составлял 2,21 ± 0,41 и 2,46 ± 0,29 $\log_2$ соответственно. Количество

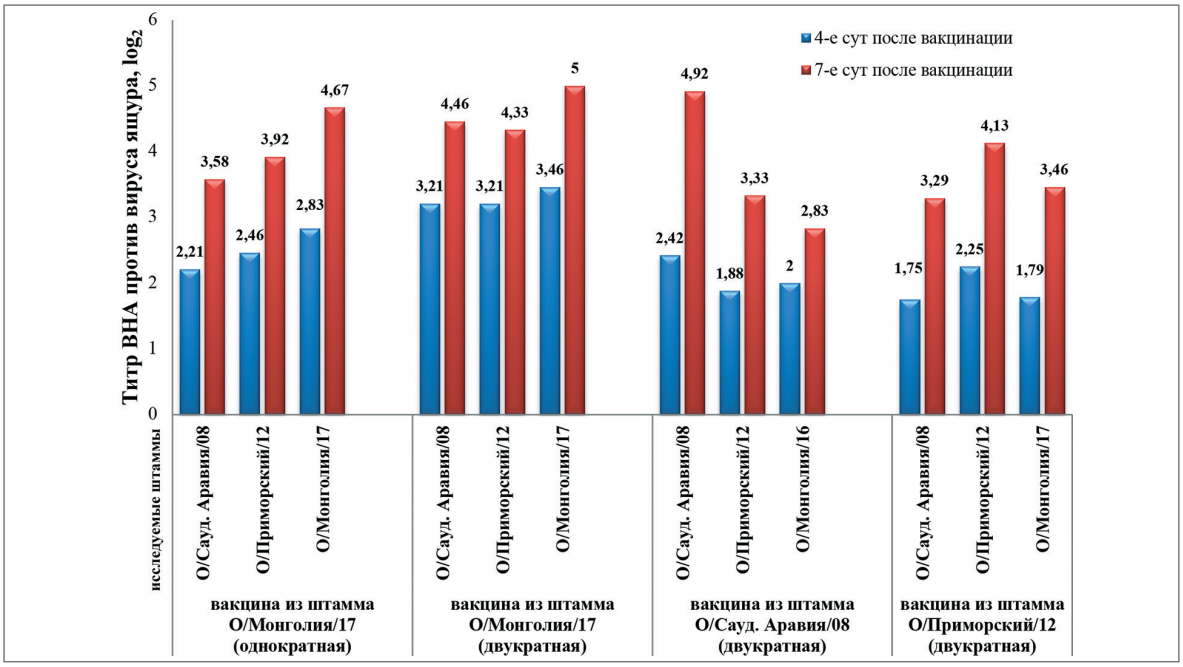


Рис. 2. Динамика образования ВНА у КРС после применения одной и двойной дозы вакцины из штамма О/Монголия/2017, двойной дозы вакцин из штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 против гомологичного и гетерологичных штаммов вируса ящура на 4-е и 7-е сут после вакцинации

Fig. 2. Dynamics of VNA formation in cattle after administration of a single or double dose of the vaccine based on O/Mongolia/2017 strain, double dose of vaccines based on O/Saudi Arabia/08 and O/Primorsky/2012 strains against homologous and heterologous FMDV strains, day 4 and 7 post-vaccination

антител против гомологичного штамма находилось на уровне 2,83 ± 0,24 log_2, что в 1,5 и 1,3 раза выше, чем против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 соответственно.

Выявлено, что на 4-е сут после введения двойной дозы моновалентной эмульсионной вакцины из штамма О/Монголия/2017 уровень ВНА против гомологичного штамма составил 3,46 ± 0,19 log_2, против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 – 3,21 ± 0,33 и 3,21 ± 0,22 log_2 соответственно. Иными словами, значения титров антител при введении данной вакцины в дозе 4 $см^3$ против гомологичного штамма были в 1,2 раза больше, чем против гетерологичного.

На 7-е сут после введения одной дозы вакцины из штамма О/Монголия/2017 уровень ВНА против гомологичного штамма составлял 4,67 ± 0,23 log_2, а против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 соответствовал значениям 3,58 ± 0,12 и 3,92 ± 0,19 log_2. Таким образом, на 7-е сут после иммунизации количество антител против гомологичного штамма превышало содержание ВНА против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 в 2,1 и 1,7 раза соответственно.

После введения данного вакцинного препарата в дозе 4 $см^3$ на 7-е сут титр антител против гомологичного штамма О/Монголия/2017 составил 5,00 ± 0,22 log_2, против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 – 4,46 ± 0,33 и 4,33 ± 0,22 log_2 соответственно. То есть на 7-е сут после введения двойной дозы вакцины из штамма О/Монголия/2017 уровень антител против гетерологичных штаммов практически не отличался от титра ВНА против гомологичного штамма. Следует отметить, что иммунизация КРС в двойной дозе по сравнению с введением одной дозы вакцины позволила на 7-е сут увеличить количество антител против штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 в 1,8 и 1,3 раза соответственно.

Из данных, представленных на рисунке 2, следует, что у КРС, привитых двойной дозой эмульсионной противоящурной вакциной из штамма О/Саудовская Аравия/08, на 4-е и 7-е сут после инокуляции уровень антител составлял 2,42 ± 0,14 и 4,92 ± 0,15 log_2 соответственно. Значения титров антител с 4-х по 7-е сут после иммунизации увеличились в 5,7 раза.

На 4-е сут после введения данной вакцины титры антител против гетерологичных штаммов О/Приморский/2012 и О/Монголия/2017 составляли 1,88 ± 0,15 и 2,00 ± 0,35 log_2 соответственно. Степень различия между титрами антител против гомологичного и гетерологичных штаммов составила 1,5 и 1,3 раза соответственно.

На 7-е сут после вакцинации этим же препаратом количество ВНА против гетерологичных штаммов О/Приморский/2012 и О/Монголия/2017 соответствовало значениям 3,33 ± 0,19 и 2,83 ± 0,12 log_2, что в 3,0 и 4,3 раза ниже по сравнению с титрами антител против гомологичного штамма.

У животных, привитых моновалентной эмульсионной вакциной из штамма О/Приморский/2012 в дозе 4 $см^3$, титры антител против гомологичного штамма на 4-е и 7-е сут после иммунизации составили 2,25 ±0,14 и 4,13 ± 0,11 log_2 соответственно. Активность гуморального иммунитета КРС против гомологичного штамма с 4-х по 7-е сут возросла в 3,7 раза.

На 4-е сут после введения данной вакцины количество ВНА против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Монголия/2017 составляло 1,75 ± 0,13 и 1,79 ± 0,10 log_2 соответственно, что в 1,4 раза ниже, чем против гомологичного штамма. На 7-е сут после иммунизации титры антител против гетерологичных штаммов соответствовали значениям

Таблица 2
Исследование гуморального и протективного иммунитета у КРС, привитых моновалентными эмульсионными вакцинами против ящура

Table 2
Study of humoral and protective immunity in cattle vaccinated with monovalent emulsion vaccines against FMD

Вакцинный штамм, доза	Титры антител против вируса ящура, log_2 ($M \pm m$)						Результаты заражения штаммом О/Монголия/17 через 7 сут после вакцинации (заражено/защищено)
	4-е сут после вакцинации			7-е сут после вакцинации			
	О/Сауд. Аравия/08	О/Приморский/12	О/Монголия/17	О/Сауд. Аравия/08	О/Приморский/12	О/Монголия/17	
О/Монголия/17 2 $см^3$	2,21 ± 0,41	2,46 ± 0,29	2,83 ± 0,33	3,58 ± 0,12	3,92 ± 0,19	4,67 ± 0,23	6/6
О/Монголия/17 4 $см^3$	3,21 ± 0,33	3,21 ±0,22	3,46 ± 0,24	4,46 ± 0,12	4,33 ± 0,11	5,00 ± 0,21	6/6
О/Сауд. Аравия/08 4 $см^3$	2,42 ± 0,14	1,88 ± 0,15	2,00 ± 0,22	4,92 ± 0,15	3,33 ± 0,19	2,83 ± 0,12	6/5
О/Приморский/12 4 $см^3$	1,75 ± 0,13	2,25 ± 0,14	1,79 ± 0,10	3,29 ± 0,12	4,13 ± 0,11	3,46 ± 0,10	6/6
Контроль 1							1/0
Контроль 2							1/0

Таблица 3
Исследование гуморального иммунитета у овец, привитых противоящурной инактивированной эмульсионной вакциной из штамма О/Монголия/2017

Table 3
Study of humoral and protective immunity in sheep vaccinated with inactivated emulsion vaccine against FMD based on O/Mongolia/2017 strain

Вакцинный штамм	Доза	Номер животного	Титры ВНА на 4-е сут после вакцинации (log_2) против штаммов вируса ящура		
			О/Сауд. Аравия/08	О/Приморский/12	О/Монголия/17
О/Монголия/17	4 см³	1	2,50	3,00	3,75
		2	3,25	2,75	3,75
		3	3,00	3,50	3,50
		4	3,00	3,75	4,00
		M ± *m*	2,94 ± 0,38	3,25 ± 0,38	3,75 ± 0,14

3,29 ± 0,12 и 3,46 ± 0,10 log_2. Таким образом, количество антител против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Монголия/2017 снизилось в 1,8 и 1,6 раза по сравнению с данными для гомологичного штамма.

Результаты исследования протективного иммунитета на 7-е сут после вакцинации у КРС, привитых моновалентными противоящурными вакцинами, представлены в таблице 2. В качестве контроля использовали двух невакцинированных животных.

Согласно таблице 2 после введения моновалентной эмульсионной вакцины из штамма О/Монголия/2017 в дозе 2 см³ отмечалась выработка ВНА в титрах, достаточных для защиты от прямого заражения гомологичным штаммом. Результаты контрольного заражения штаммом О/Монголия/2017 через 7 сут после вакцинации показали, что у всех шести животных, иммунизированных двойной дозой вакцин из штаммов О/Приморский/2012 и О/Монголия/2017, характерные признаки ящура отсутствовали. Эмульсионная противоящурная вакцина из штамма О/Саудовская Аравия/08 через 7 сут после введения не обеспечила защиту от заражения одной из шести голов КРС. Заболевшее животное на 7-е сут после вакцинации имело титр ВНА, равный 2,75 log_2. У двух контрольных животных также были обнаружены признаки ящура.

На следующем этапе работы проводили исследование формирования раннего иммунитета у овец после иммунизации моновалентной эмульсионной противоящурной вакциной из штамма О/Монголия/2017 в дозе 4 см³. Оценка иммунного статуса овец была затруднена из-за отсутствия вируса, адаптированного к этому виду животных, вследствие чего контрольное заражение не проводилось. Результаты определения титра ВНА на 4-е сут после иммунизации животных отражены в таблице 3.

Из таблицы 3 следует, что на 4-е сут после иммунизации уровень антител против гомологичного штамма составил 3,75 ± 0,14 log_2. Титры ВНА против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 соответствовали значениям 2,94 ± 0,38 и 3,25 ± 0,38 log_2 соответственно. Таким образом, на 4-е сут после введения вакцинного препарата у овец был сформирован ранний иммунитет, активность которого против гетерологичных штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 по сравнению с гомологичным штаммом была ниже в 1,8 и 1,4 раза. Иными словами, применение противоящурной инактивированной эмульсионной вакцины из штамма О/Монголия/2017 способствует формированию иммунитета у овец в ранние сроки после введения препарата.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования по изучению формирования раннего иммунитета у естественно восприимчивых животных против ящура типа О свидетельствуют о том, что противоящурная инактивированная эмульсионная вакцина из штамма О/Монголия/2017 на 7-е сут после введения двойной дозы свиньям индуцировала выработку вируснейтрализующих антител в количестве 3,90 ± 0,30 log_2. На 7-е сут после иммунизации КРС данной вакциной в дозе 2 см³ титр ВНА против гомологичного штамма соответствовал значению 4,67 ± 0,23 log_2, в дозе 4 см³ – 5,00 ± 0,21 log_2. Результаты контрольного заражения КРС и свиней штаммом О/Монголия/2017 через 7 сут после иммунизации показали, что у всех животных, привитых вакциной из гомологичного вируса, генерализованные признаки ящура отсутствовали.

При введении двойной дозы противоящурной инактивированной эмульсионной вакцины из штамма О/Приморский/2012 на 7-е сут после иммунизации титр ВНА у свиней против гетерологичного штамма О/Монголия/2017 был равен 3,60 ± 0,27 log_2, а у КРС – 3,46 ± 0,10 log_2. По результатам контрольного заражения все животные, привитые противоящурной вакциной из штамма О/Приморский/2012, были защищены от штамма О/Монголия/2017 вируса ящура.

Противоящурная инактивированная эмульсионная вакцина из штамма О/Саудовская Аравия/08 через 7 сут после введения в дозе 4 см³ способствовала выработке ВНА против штамма О/Монголия/2017 у свиней в количестве 2,35 ± 0,35 log_2, у КРС – 2,83 ± 0,12 log_2. При этом по итогам контрольного заражения штаммом О/Монголия/2017 вируса ящура иммунизация данной вакциной в двойной дозе не обеспечила защиту одного из пяти подсвинков и одной из шести голов КРС. У заболевших

животных на 7-е сут после вакцинации титры ВНА составляли 2,75 $\log_2$ (КРС) и 2,00 $\log_2$ (свинья).

На 4-е сут после иммунизации овец противоящурной инактивированной эмульсионной вакциной из штамма О/Монголия/2017 в дозе 4 $см^3$ титр ВНА против гомологичного штамма составлял 3,75 ± 0,14 $\log_2$, что свидетельствовало о способности данного препарата формировать ранний иммунитет. Уровень гуморального иммунитета у овец, привитых данной вакциной, против штаммов О/Саудовская Аравия/08 и О/Приморский/2012 был ниже в 1,8 и 1,4 раза по сравнению с гомологичным штаммом. Исследования, проведенные на КРС, позволяют предположить, что противоящурная инактивированная эмульсионная вакцина из штамма О/Монголия/2017 может обеспечить формирование протективного иммунитета и у овец.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 1–3, 5, 7, 9 см. REFERENCES)

4. Дудников А. И. Ранняя защита после противоящурной иммунизации. Ветеринарна медицина: міжвід. тем. наук. зб. Харків; 2008; 91: 189–191.

6. Михалишин Д. В., Лезова Т. Н., Ходакова Н. Н., Борисов А. В., Клюкина Н. Д., Стариков В. А., Михалишин В. В., Балашов А. Н. Динамика развития противоящурного гуморального иммунитета у крупного рогатого скота, иммунизированного трехвалентной сорбированной вакциной типов А, О, Азия-1. Труды Федерального центра охраны здоровья животных; 2007; 5: 75–82. eLIBRARY ID: 14454047.

8. Лозовой Д. А., Михалишин Д. В., Стариков В. А., Шишкова А. А., Доронин М. И., Медведева Н. Н., Негазина Н. Н., Петерс М. А. Методические рекомендации по определению концентрации 146S, 75S, 12S компонентов вакцинных штаммов культурального вируса ящура в реакции связывания комплемента (РСК): утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 21.09.2017 (№ 39-17). Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2017. 51 с.

10. Методические указания по постановке реакции нейтрализации для определения статуса животных при ящуре: утв. ГУВ МСХ СССР 26.12.83 115-6а.

11. Лакин Г. Ф. Биометрия: учеб. пособие. 4-е изд., перераб. и доп. М.: Высшая школа; 1990. 352 с.

REFERENCES

1. Barnett P., Garland J. M., Kitching R. P., Schermbrucker C. G. Aspects of emergency vaccination against foot-and-mouth disease. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis*. 2002; 25 (5–6): 345–364. DOI: 10.1016/s0147-9571(02)00031-0.

2. Quattrocchi V., Pappalardo J. S., Langellotti C., Smitsaart E., Fondevila N., Zamorano P. Early protection against foot-and-mouth disease virus in cattle using an inactivated vaccine formulated with Montanide ESSAI IMS D 12802 VG PR adjuvant. *Vaccine*. 2014; 32 (19): 2167–2172. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.02.061.

3. Salt J. S., Barnett P. V., Dani P., Williams L. Emergency vaccination of pigs against foot-and-mouth disease: protection against disease and reduction in contact transmission. *Vaccine*. 1998; 16 (7): 746–754. DOI: 10.1016/s0264-410x(97)86180-4.

4. Dudnikov A. I.Early protection following FMD immunization [Rannyaya zashchita posle protivoyashchurnoj immunizacii]. *Veterinarna medizina: mizhvid. tem. nauk. zb*. Kharkiv; 2008; 91: 189–191. (in Russian)

5. Golde W. T., Pacheco J. M., Duque H., Doel T., Penfold B., Ferman G. S., Gregg D. R., Rodriguez L. L. Vaccination against foot-and-mouth disease virus confers complete clinical protection in 7 days and partial protection in 4 days: Use in emergency outbreak response. *Vaccine*. 2005; 23 (50): 5775–5782. DOI: 10.1016/j.vaccine.2005.07.043.

6. Mikhalishin D. V., Lyozova T. N., Khodakova N. N., Borisov A. V., Klyukina N. D., Starikov V. A., Mikhalishin V. V., Balashov A. N. Dynamics of anti-FMD humoral immunity in cattle immunized with trivalent type A, O, Asia-1 sorbated vaccine. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2007; 5: 75–82. eLIBRARY ID: 14454047. (in Russian)

7. Horsington J., Zhang Z., Bittner H., Hole K., Singanallur N. B., Alexandersen S., Vosloo W. Early protection in sheep against intratypic heterologous challengewith serotype O foot-and-mouth disease virus using high-potency, emergency vaccine. *Vaccine.* 2015; 33 (3): 422–429. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.11.043.

8. Lozovoy D. A., Mikhalishin D. V., Starikov V. A., Shishkova A. A., Doronin M. I., Medvedeva N. N., Negazina N. N., Peters M. A. Methodical recommendations for determination of concentration of 146S, 75S, 12S components of vaccine strains of culture FMD virus in complement fixation test (CFT) [Metodicheskie rekomendacii po opredeleniyu koncentracii 146S, 75S, 12S komponentov vakcinnyh shtammov kul'tural'nogo virusa yashchura v reakcii svyazyvaniya komplementa (RSK)]: adopted by FGBI "ARRIAH", 21.09.2017 (No. 39-17). Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2017. 51 p. (in Russian)

9. Cox S. J., Barnett P. V. Experimental evaluation of foot-and-mouth disease vaccines for emergency use in ruminants and pigs: a review. *Vet. Res*. 2009; 40 (3):13. DOI: 10.1051/vetres:2008051.

10. Methodical guidelines for neutralization test for determination of animals' status in case of FMD [Metodicheskie ukazaniya po postanovke reakcii nejtralizacii dlya opredeleniya statusa zhivotnyh pri yashchure]: adopted by General Veterinary Administration of MoA USSR 26.12.83 115-6a. (in Russian)

11. Lakin G. F. Biometrics [Biometriya]: Study guide. 4th ed. updated and revised. M.: Higher School; 1990. 352 p. (in Russian)

Поступила 19.12.2019
Принята в печать 02.03.2020

Received on 19.12.2019
Approved for publication on 02.03.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Михалишин Дмитрий Валерьевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Лозовой Дмитрий Анатольевич, доктор ветеринарных наук, доцент, заместитель директора по НИР и развитию ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Стариков Вячеслав Алексеевич, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Елькина Юлия Сергеевна, аспирант, технолог лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Доронин Максим Игоревич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Борисов Алексей Валерьевич, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Dmitry V. Mikhalishin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Dmitry A. Lozovoy, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Deputy Director for Research and Development, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Vyacheslav A. Starikov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Yulia S. El'kina, Post-Graduate Student, Technologist, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Maksim I. Doronin, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Alexey V. Borisov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

УДК 619:579.887.111:636.2:616-076
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-102-108

Распространение микоплазмозов крупного рогатого скота на животноводческих фермах в Российской Федерации в период с 2015 по 2018 год

Мохаммад Абед Алхуссен[1], А. А. Нестеров[2], В. В. Кирпиченко[3], С. П. Яцентюк[4], А. В. Спрыгин[5], О. П. Бьядовская[6], А. В. Кононов[7]

[1] ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), Москва, Россия

[2,3,5,6,7] ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

[4] ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»), Москва, Россия

[1] *ORCID 0000-0002-1210-0303, e-mail: alhussenmohammed85@hotmail.com*

[2] *ORCID 0000-0002-4288-1964, e-mail: nesterov@arriah.ru*

[3] *ORCID 0000-0002-2494-3826, e-mail: kirpichenko@arriah.ru*

[4] *ORCID 0000-0002-4819-2131, e-mail: pcr-lab@vgnki.ru*

[5] *ORCID 0000-0001-5982-3675, e-mail: sprygin@arriah.ru*

[6] *ORCID 0000-0002-8326-7151, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru*

[7] *ORCID 0000-0002-5523-3261, e-mail: kononov@arriah.ru*

РЕЗЮМЕ

Учитывая широкое распространение микоплазмозов крупного рогатого скота в странах с развитым животноводством и торговые связи Российской Федерации с зарубежными партнерами, в том числе импорт племенного скота и спермы от быков-производителей, проблема контроля микоплазмозов не теряет своей актуальности. В работе представлены результаты исследования 1186 проб биоматериала (кровь, сыворотка крови, назальные смывы, молоко, смывы с препуции и вагинальные смывы, абортированные и мертворожденные плоды), полученных от животных с клиническими признаками респираторной и/или репродуктивной патологии из 34 различных регионов Российской Федерации в период с 2015 по 2018 г. Указанные образцы были исследованы на наличие геномов таких возбудителей микоплазмозов, как *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma dispar*, методом полимеразной цепной реакции в реальном времени. В результате проведенных исследований геном *M. bovis* был обнаружен в 10,1% проб, геном *M. bovigenitalium* выявлен в 8,6% проб, а геном M. *dispar* регистрировали в 37,15% проб. Также с помощью ПЦР-исследования было протестировано 927 образцов семенной жидкости, поступивших из отечественных и иностранных племенных хозяйств. Полученные результаты показали наличие геномов *M. bovis* и *M. bovigenitalium* в образцах спермы от местного поголовья быков. Представленные данные подтверждают выводы отечественных ученых о широком распространении микоплазмозов среди крупного рогатого скота на территории Российской Федерации и угрозе заноса возбудителей заболевания с ввозимой спермой. Все это указывает на необходимость контроля спермопродукции, как источника распространения микоплазмозов, а также на недостаточность однократного исследования семени для присвоения племенному хозяйству статуса благополучия для реализации генетического материала.

Ключевые слова: *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma dispar*, полимеразная цепная реакция, распространение, крупный рогатый скот, биоматериал, сперма.

Благодарность: Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Абед Алхуссен Мохаммад, Нестеров А. А., Кирпиченко В. В., Яцентюк С. П., Спрыгин А. В., Бьядовская О. П., Кононов А. В. Распространение микоплазмозов крупного рогатого скота на животноводческих фермах в Российской Федерации в период с 2015 по 2018 год. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 102–108. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-102-108.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Мохаммад Абед Алхуссен, аспирант департамента ветеринарной медицины аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), 117198, Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6, *e-mail: alhussenmohammed85@hotmail.com*.

UDC 619:579.887.111:636.2:616-076

Bovine mycoplasmosis occurrence on livestock farms in the Russian Federation for 2015–2018

Mohammad Abed Alhussen[1], A. A. Nesterov[2], V. V. Kirpichenko[3], S. P. Yatsentyuk[4], A. V. Sprygin[5], O. P. Byadovskaya[6], A. V. Kononov[7]

[1] People's Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia

[2,3,5,6,7] FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia
[4] FGBI "The Russian State Centre for Animal Feed and Drug Standardization and Quality" (FGBI "VGNKI"), Moscow, Russia
[1] *ORCID 0000-0002-1210-0303, e-mail: alhussenmohammed85@hotmail.com*
[2] *ORCID 0000-0002-4288-1964, e-mail: nesterov@arriah.ru*
[3] *ORCID 0000-0002-2494-3826, e-mail: kirpichenko@arriah.ru*
[4] *ORCID 0000-0002-4819-2131, e-mail: pcr-lab@vgnki.ru*
[5] *ORCID 0000-0001-5982-3675, e-mail: sprygin@arriah.ru*
[6] *ORCID 0000-0002-8326-7151, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru*
[7] *ORCID 0000-0002-5523-3261, e-mail: kononov@arriah.ru*

SUMMARY

Mycoplasmosis control remains urgent in view of wide spread of bovine mycoplasmoses in the countries with intensive animal farming and trade relations between the Russian Federation and foreign partners including import of pedigree livestock and stud bull semen. Results of testing 1,186 biomaterial samples (blood, sera, nasal swabs, milk, preputial swabs, vaginal swabs, aborted and stillborn fetuses) collected from animals that demonstrated clinical signs of respiratory and reproductive disorders in 34 different regions of the Russian Federation for 2015–2018 are presented in the paper. The samples were tested with real-time polymerase chain reaction (rtPCR) for genomes of the following mycoplasmosis agents: *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma dispar*. As a result, *M. bovis* genome was detected in 10.1% of the samples, *M. bovigenitalium* genome was detected in 8.6% of the samples and M. *dispar* genome was detected in 37.15% of the samples. Also, 927 semen samples submitted from Russian and foreign breeding farms were tested with PCR. Test results showed presence of *M. bovis* and *M. bovigenitalium* genomes in semen samples collected from native bull population. Presented data support Russian scientists' conclusions on wide mycoplasmoses occurrence in cattle in the Russian Federation territory and risk of the disease agent introduction through semen import. All of these highlight the need for control of semen products as a source for mycoplasmosis spread as well as insufficiency of single testing of semen for granting the disease-free status to the breeding farm for genetic material marketing.

Key words: *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma dispar*, polymerase chain reaction, spread, cattle, biomaterials, semen.

Acknowledgements: The work was funded by the FGBI "ARRIAH" as a part of the research activities "Animal health and welfare".

For citation: Abed Alhussen Mohammad, Nesterov A. A., Kirpichenko V. V., Yatsentyuk S. P., Sprygin A. V., Byadovskaya O. P., Kononov A. V. Bovine mycoplasmosis occurrence on livestock farms in the Russian Federation for 2015–2018. *Veterinary Science Today.* 2020; 2 (33): 102–108.
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-102-108.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Mohammad Abed Alhussen, Post-Graduate Student, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, People's Friendship University of Russia (RUDN University), 117198, Russia, Moscow, Miklukho-Maklay str., 6, *e-mail: alhussenmohammed85@hotmail.com.*

ВВЕДЕНИЕ

В развитии микоплазмозов крупного рогатого скота (КРС) значительную роль играют *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC (Mmm SC), *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*), *Mycoplasma bovigenitalium* (*M. bovigenitalium*) и *Mycoplasma dispar* (*M. dispar*). Высокий уровень заболеваемости существенно влияет на благополучие животноводческой отрасли и приводит к значительным экономическим потерям в мясной и молочной промышленности [1, 2].

M. bovis – наиболее распространенный после Mmm SC возбудитель микоплазмоза КРС, он является одним из основных патогенов, вызывающих множество заболеваний: воспаление дыхательных путей, артриты, кератоконъюнктивиты, маститы и др. [2, 3]. Распространенность мастита, ассоциированного с *M. bovis* среди КРС и буйволов, уже признается серьезной проблемой во всем мире [4, 5], и в результате увеличения числа вспышек данного заболевания в основных странах – производителях молочной продукции актуальность инфекции, вызванной данным патогеном, неуклонно растет [6–8]. Так, *M. bovis* выявляли у животных на юго-востоке Франции [9] и в Чехии [10]. Имеются сообщения, что распространенность *M. bovis* в Северной Греции составила 8,2% [11], в Польше в популяции КРС – 76,6% [12]. Процент превалирования *M. bovis* у КРС в Южной Австралии был немного ниже – 6,2% [13].

Неоднородность распространенности *M. bovis* в различных странах может быть объяснена плотностью восприимчивых животных [9]. Так, спорадический характер микоплазменного мастита во Франции объясняется небольшим размером стад, а также применением эффективных методов управления.

Поскольку возбудитель может передаваться с инфицированным молоком, в процессе ухода за животными, при проведении ветеринарных и зоотехнических процедур [14], особенную значимость имеет то, что источником заражения могут быть животные, не проявляющие каких-либо клинических признаков заболевания. Риск возникновения вспышек микоплазмоза в хозяйстве увеличивается при введении новых животных в стадо [15].

Вероятность заражения микоплазмами КРС, выращиваемого по полуинтенсивной технологии, в 4,6 раза выше, чем животных с выгульным способом содержания [16]. Связано это с тем, что при полуинтенсивной системе содержания КРС возрастает риск передачи патогена при прямом контакте животных [17].

Из обследованных вагинальных мазков коров в Египте *M. bovis* была выделена в 2,2% проб, в то время как выявляемость M. *bovigenitalium* составляла 13,3% [18]. При проведении аналогичных исследований *M. bovigenitalium* была выделена в Бразилии (9,29%) [19] и Японии (7,4%) [20].

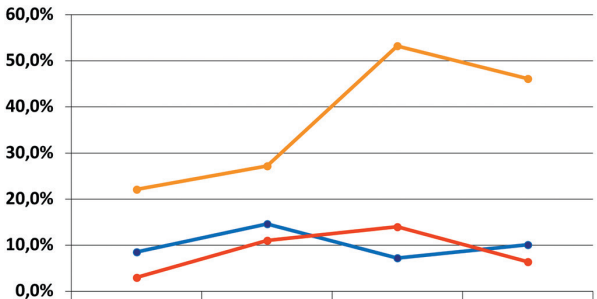
Генитальные инфекции у коров, вызванные *M. bovigenitalium*, характеризуются гранулярным вульвовагинитом, сопровождающимся слизисто-гнойными выделениями из влагалища, которые могут вызывать бесплодие, а в некоторых случаях – некротическим эндометритом [21]. Экономический ущерб при поражении *M. bovigenitalium* связан с бесплодием и низкой репродуктивной способностью животных [21, 22].

Многие исследователи считают, что *M. dispar* является одним из возбудителей респираторных заболеваний КРС, которые имеют повсеместное распространение и характеризуются воспалением слизистых оболочек верхних дыхательных путей и поражением легких. Хотя микроорганизмы этого вида вызывают незначительные пневмонийные поражения, повышенная встречаемость *M. dispar* подтверждает их роль в патогенезе респираторных заболеваний КРС. При неблагоприятных условиях микоплазмы самостоятельно или в комбинации с другими инфекционными агентами могут вызывать серьезные респираторные заболевания, тем самым вызывая экономические потери в крупных животноводческих хозяйствах с высокой концентрацией животных [23, 24].

Целью исследования было изучение распространенности *M. bovis*, *M. bovigenitalium* и *M. dispar* в различных субъектах Российской Федерации и проведение исследований проб отечественной и импортируемой спермы быков-производителей на наличие генома микоплазм данных видов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве образцов для исследования использовали кровь, сыворотку крови, назальные смывы, молоко, препуциальные и вагинальные смывы, абортированные и мертворожденные плоды. Образцы были получены от КРС с клиническими признаками репродуктивной и/или респираторной патологии из 34 регионов Российской Федерации в период с 2015 по 2018 г.



	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.
M. bovis	8,5%	14,6%	7,2%	10,1%
M. bovigenitalium	3,0%	11,0%	14,0%	6,4%
M. dispar	22,1%	27,2%	53,2%	46,1%

Рис. 1. Результаты выявления генома микоплазм в пробах биологического материала в 2015–2018 гг.

Fig. 1. Results of tests of biological materials for mycoplasma genomes (2015–2018)

В 2015 г. было проведено исследование 115 проб биоматериала, в 2016 г. – 337 проб, в 2017 г. – 373 пробы, в 2018 г. – 361 проба.

Дополнительно в ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) исследовали полученные из племенных хозяйств различных регионов Российской Федерации образцы спермы быков (483 спермодозы).

Кроме этого, исследования 444 образцов спермы быков из отечественных и иностранных племенных центров были проведены на базе отдела генодиагностики инфекционных болезней животных ФГБУ «ВГНКИ» (г. Москва).

Для изучения выделения *M. bovis* и *M. bovigenitalium* со спермой проводили периодический отбор семенной жидкости от четырех быков-производителей с нарушениями репродуктивной функции.

Предварительную обработку проб проводили в соответствии с требованиями МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». ДНК возбудителей в ФГБУ «ВНИИЗЖ» выделяли с помощью набора AllPrep DNA/RNA Mini Kit (Qiagen, Германия), в ФГБУ «ВГНКИ» – с использованием набора «РИБО-преп» (АмплиСенс, Россия), следуя требованиям соответствующей инструкции по применению.

ПЦР-исследования биологического материала проводили на базе ФГБУ «ВНИИЗЖ» методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) с помощью коммерческих наборов для выявления генома *M. bovis*, *M. bovigenitalium* и *M. dispar* собственного производства согласно инструкции по применению.

Исследования образцов спермопродукции КРС проводили в ФГБУ «ВГНКИ» методом ПЦР-РВ согласно ранее разработанным методикам [25].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследование биоматериала, полученного из различных регионов Российской Федерации

Результаты исследования методом ПЦР-РВ 1186 проб биоматериала от КРС, полученных из 34 субъектов Российской Федерации в 2015–2018 гг., представлены на рисунке 1.

Как видно из представленного рисунка 1, средний процент выявляемости генома *M. bovis* за весь период исследований составил 10,1% *M. bovigenitalium* – 8,6%, а *M. dispar* – 37,15%.

Следует отметить, что при анализе положительных на микоплазмоз проб установлено, что чаще выделяли *M. dispar* по сравнению с *M. bovis* и *M. bovigenitalium*. Среди всех ПЦР-положительных на микоплазмоз проб средняя удельная доля генома *M. dispar* за 4 года составила 58,75%. Аналогичный показатель для *M. bovis* и *M. bovigenitalium* составил 32,50 и 8,75% соответственно.

Исследование образцов спермы

С целью оценки качества семенной жидкости на базе ФГБУ «ВНИИЗЖ» были проверены 241 проба семени отечественного и 242 пробы семени импортного происхождения, полученные от быков-доноров. При исследовании 483 образцов спермы, полученных из 13 субъектов РФ в 2015–2018 гг., геном возбудителей микоплазмозов КРС был выявлен в 114 пробах, что составило 23,6% от общего числа исследованных образцов.

Таблица 1
Результаты исследований 483 образцов спермопродукции, проведенных в ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Table 1
Results of tests of 483 semen product samples carried out in the FGBI "ARRIAH"

Патоген	Количество положительных проб спермы			
	местного происхождения		импортная	
	шт.	%	шт.	%
M. bovis	28	11,6	6	2,5
M. bovigenitalium	70	29,0	10	4,1
Итого	98	40,6	16	6,6

Данные по оценке семенной жидкости на предмет контаминации микоплазмами представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, в пробах семени российского производства наиболее часто выявляли геном *M. bovigenitalium* (29%), при этом геном *M. bovis* удалось выделить лишь в 11,6% проб.

Из 242 проб импортного семени выявили 10 проб, содержащих геном *M. bovigenitalium*, и 6 проб, содержащих геном *M. bovis*, что составило 4,1 и 2,5% соответственно.

С целью определения степени выявляемости геномов *M. bovis* и *M. bovigenitalium* в пробах семенной жидкости был проведен анализ результатов исследований за 2015–2018 гг. (рис. 2).

Проведенный анализ показал, что наименьшее выявление геномов *M. bovis* (2,1%) и *M. bovigenitalium* (6,3%) наблюдалось в 2015 г. Однако к 2018 г. данный показатель вырос до 6 и 15,5% соответственно (рис. 2). Пик выявления генома *M. bovis* наблюдался в 2016 г.: 9,8% положительных проб от общего числа исследованных образцов. Наибольшее количество содержащих геном *M. bovigenitalium* образцов отмечалось в 2017 г., тогда показатель составил 25% от общего числа исследованных проб.

При исследовании методом ПЦР-РВ в ФГБУ «ВГНКИ» 444 образцов спермы, полученных из отечественных и иностранных племенных центров, геномы *M. bovis* и *M. bovigenitalium* были выявлены в 187 образцах, что составило 42,1% от общего числа исследованных проб.

В образцах спермы, доставленных из российских племенных хозяйств, геном *M. bovis* обнаружен не был, однако ДНК *M. bovigenitalium* была выявлена в 60,7% исследованных проб (табл. 2).

При исследовании спермодоз, полученных из племенных хозяйств Великобритании, США и Нидерландов, геномы *M. bovigenitalium* и *M. bovis* обнаруживали в 22,3 и 3% исследуемых образцов соответственно. При этом ДНК *M. bovis* была выявлена только в образцах спермы, поступивших из племенных центров США.

Исследование экскреции микоплазм у быков-производителей

Для изучения экскреции микоплазм со спермой в период с 2015 по 2018 г. производили отбор проб семенной жидкости от 4 быков-производителей с нарушениями репродуктивной функции. Отобранный материал исследовали на наличие геномов *M. bovis* и *M. bovigenitalium* методом ПЦР-РВ. Результаты представлены в таблице 3.

Из результатов, представленных в таблице 3, видно, что в сперме исследованных быков выявлялся геном только *M. bovigenitalium*. Следует отметить, что геном *M. bovigenitalium* выявляли в период с 2015 по 2017 г., тогда как пробы, отобранные от этих же быков-производителей в 2018 г., показали отрицательные результаты.

Периодичность обнаружения генома микоплазм в семени быков-производителей может быть связана со множеством факторов внешней и внутренней среды: ввод в стадо инфицированного скота, периодическая обработка антимикробными препаратами и т. д. На сегодняшний день микоплазменные инфекции остаются недостаточно изученными и требуют дальнейших исследований в области диагностики и клинического течения инфекционного процесса у животных.

ОБСУЖДЕНИЕ

Микоплазмы являются одними из наиболее распространенных инфекционных заболеваний КРС. В Германии и США ежегодно регистрируется до 100 тысяч новых клинических случаев инфицирования КРС микоплазмами [26].

Геном *M. dispar* наиболее часто регистрировали в биоматериале от КРС с клиническими признаками респираторной патологии (рис. 1). Важно отметить, что, несмотря на то что *M. bovigenitalium* является генитальным патогеном, в ряде случаев ее геном выявляли

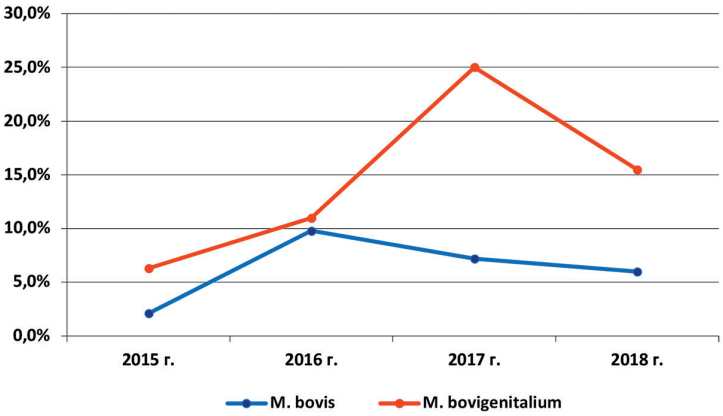


Рис. 2. Выявление геномов M. bovis и M. bovigenitalium в пробах спермопродукции в 2015–2018 гг.

Fig. 2. M. bovis and M. bovigenitalium detection in semen product samples in 2015–2018

Таблица 2
Результаты исследований 444 образцов спермопродукции, проведенных на базе ФГБУ «ВГНКИ»

Table 2
Results of tests of 444 semen product samples carried out in the FGBI "VGNKI"

Патоген	Количество положительных проб спермы			
	местного происхождения		импортная	
	шт.	%	шт.	%
M. bovigenitalium	128	60,7	52	22,3
M. bovis	0	0	7	3,0
Итого	128	60,7	59	25,3

в пробах респираторных органов и носовых смывах. Анализируя динамику выявляемости, можно отметить тенденцию к нарастанию процента обнаружения генома *M. dispar* в исследованных пробах (рис. 1), тогда как регистрация *M. bovis* и *M. bovigenitalium* остается примерно на одном и том же уровне, что подчеркивает необходимость систематического мониторинга данных патогенов.

Особую озабоченность вызывает способность микоплазм контаминировать сперму быков-производителей. Использование несертифицированной спермы может существенным образом сказаться на благополучии по микоплазмозам всего поголовья в тех хозяйствах, где ведется племенная работа и/или осуществляется искусственное осеменение. Результаты исследований, проведенных в ФГБУ «ВГНКИ», показали, что в сперме быков геном *M. bovis* был обнаружен в 3% образцов, полученных из иностранных племенных центров, и не был выявлен в сперме, поступившей из отечественных племенных хозяйств. ДНК *M. bovigenitalium* была выявлена в 60,7% проб спермы быков из отечественных племенных хозяйств и в 22,3% образцов спермы из зарубежных племенных центров (табл. 2, рис. 2).

При исследовании, проведенном на базе ФГБУ «ВНИИЗЖ», геномы *M. bovis* и *M. bovigenitalium* выявляли в сперме отечественных быков-производителей в 11,6 и 29,0% проб соответственно, в то время как в импортной сперме процент обнаружения составлял 2,5 и 4,1 соответственно (табл. 1).

Обращает внимание различие в результатах тестирования спермопродукции, полученных в ФГБУ «ВГНКИ» и ФГБУ «ВНИИЗЖ». Это может быть связано с различным происхождением выборки образцов для проведения исследований. В лабораторию ФГБУ «ВНИИЗЖ» поступали образцы из крупных животноводческих хозяйств, которые одновременно могут являться племенными центрами. В данной работе их разделение не проводилось.

В ФГБУ «ВГНКИ» на исследование поступала сперма, которую закупали непосредственно в племенных центрах. Нельзя также исключить и различия в контроле за состоянием здоровья быков-производителей в отечественных и зарубежных племенных хозяйствах, импортирующих спермопродукцию в РФ.

Микоплазмоз является факторной инфекционной болезнью животных, пусковым механизмом для которой являются стрессовые воздействия, скученность животных, сырость и повышенная влажность воздуха, нарушения при кормлении и т. д.

Антибиотикотерапия, проводимая в хозяйствах для борьбы с микоплазмозом, играет определенную роль в оздоровлении стада, однако важно понимать, что одной этой меры недостаточно для полного выздоровления животных, в связи с тем что микоплазмы вызывают длительную персистенцию в организме животного и их экскреция приобретает периодический характер, что обуславливает проведение систематического мониторинга данных инфекций (табл. 3).

Представленные данные подтверждают результаты исследований отечественных ученых о широком распространении микоплазмозов среди КРС на территории РФ и угрозе заноса возбудителей заболевания с ввозимой спермой [27, 28].

Полученные в ходе исследования результаты указывают на необходимость контроля спермопродукции как источника распространения микоплазмозов (особенно это касается импортного сырья), а также на недостаточность однократного исследования семени для присвоения племенному хозяйству статуса благополучия для реализации генетического материала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о распространении микоплазмозов КРС в хозяйствах различных регионов Российской Федерации в период с 2015 по 2018 г. Идентификация геномов *M. bovis* и *M. bovigenitalium* в сперме, поступающей из отечественных и иностранных племенных центров, указывает на высокие риски дальнейшего распространения патогенных микоплазм при отсутствии систематического надзора по недопущению их распространения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 1–24 см. REFERENCES)

25. Козлова А. Д., Горбачева Н. С., Хаерова Р. Ф., Красникова М. С., Лазарева Е. А., Яцентюк С. П. Дифференциация *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma californicum* и выявление *Ureaplasma diversum* методом ПЦР в реальном времени. *Сельскохозяйственная биология.* 2019; 54 (2): 378–385. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.2.378rus.

26. Урбан В. П., Найманов И. Л. Болезни молодняка в промышленном животноводстве. М.: Колос; 1984. 207 с.

27. Красиков А. П., Рудаков Н. В. Микоплазмозы человека и животных и их эпидемиологическое и эпизоотологическое значение: монография. Омск: Омский научный вестник; 2016. 608 с.

28. Сухинин А. А., Макавчик С. А., Кузьмин В. А., Фогель Л. С., Орехов Д. А., Карпенко Л. Ю., Кан Ф. Л. Методические рекомендации по профилактике и ликвидации микоплазмозов сельскохозяйственных животных, в том числе птиц. СПб.: ФГБОУ ВО СПбГАВМ; 2017. 23 с. eLIBRARY ID: 30063528.

Таблица 3
Результаты периодических исследований спермы быков на наличие геномов *M. bovis* и *M. bovigenitalium*

Table 3
Results of periodic tests of bull semen for *M. bovis* and *M. bovigenitalium* genomes

№ п/п	Номер животного	Дата отбора проб	Результат исследования	
			M. bovis	*M. bovigenitalium*
1	1	25.07.15	геном не выявлен	геном не выявлен
2		15.05.16	геном не выявлен	геном не выявлен
3		05.09.17	геном не выявлен	**геном выявлен**
4		10.12.17	геном не выявлен	геном не выявлен
5		27.10.18	геном не выявлен	геном не выявлен
6	2	14.03.15	геном не выявлен	**геном выявлен**
7		18.10.15	геном не выявлен	**геном выявлен**
8		14.03.16	геном не выявлен	геном не выявлен
9	3	10.04.15	геном не выявлен	геном не выявлен
10		03.12.15	геном не выявлен	геном не выявлен
11		21.01.16	геном не выявлен	геном не выявлен
12		20.10.17	геном не выявлен	геном не выявлен
13		27.10.18	геном не выявлен	геном не выявлен
14	4	17.04.15	геном не выявлен	**геном выявлен**
15		16.07.15	геном не выявлен	**геном выявлен**
16		02.12.15	геном не выявлен	**геном выявлен**
17		28.04.16	геном не выявлен	геном не выявлен
18		07.09.16	геном не выявлен	**геном выявлен**
19		14.02.17	геном не выявлен	геном не выявлен
20		13.08.17	геном не выявлен	геном не выявлен
21		16.12.17	геном не выявлен	геном не выявлен
22		07.02.18	геном не выявлен	геном не выявлен
23		26.05.18	геном не выявлен	геном не выявлен
24		28.09.18	геном не выявлен	геном не выявлен
25		20.12.18	геном не выявлен	геном не выявлен

REFERENCES

1. Eissa S. I., Hassan A. M., Hashem Y. M., Shaker M. M. Comparative molecular study of *Mycoplasma bovis* isolates from Egyptian buffaloes and cows suffered from mastitis. *European J. Biol. Sci.* 2012; 4 (4): 114–120. DOI: 10.5829/idosi.ejbs.2012.4.4.6668.

2. Nicholas R. A., Ayling R. D. *Mycoplasma bovis*: Disease, diagnosis, and control. *Res. Vet. Sci.* 2003; 74 (2): 105–112. DOI: 10.1016/s0034-5288(02)00155-8.

3. Fox L. K. *Mycoplasma* mastitis: Causes, transmission, and control. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2012; 28 (2): 225–237. DOI: 10.1016/j.cvfa.2012.03.007.

4. Eissa S., Hashem Y., Abo-Shama U. H., Shaker M. Sequence analysis of three genes of *Mycoplasma bovis* isolates from Egyptian cattle and buffaloes. *British Microbiol. Res. J.* 2016; 14 (3): 1–10. DOI: 10.9734/BMRJ/2016/25014.

5. Mustafa R., Qi J., Ba X., Chen Y., Hu Ch., Liu X., et al. *In vitro* quinolones susceptibility analysis of chinese *Mycoplasma bovis* isolates and their phylogenetic scenarios based upon QRDRs of DNA topoisomerases revealing a unique transition in ParC. *Pak. Vet. J.* 2013; 33 (3): 364–369. Available at: http://pvj.com.pk/pdf-files/33_3/364-369.pdf.

6. Protection & Response. Biosecurity New Zealand. Available at: https://www.biosecurity.govt.nz/protection-and-response/mycoplasma-bovis/resources-for-mycoplasma-bovis/media-releases/.

7. Haapala V., Pohjanvirta T., Vähänikkilä N., Halkilahti J., Simonen H., Pelkonen S., et al. Semen as a source of *Mycoplasma bovis* mastitis in dairy herds. *Vet. Microbiol.* 2018; 216: 60–66. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.02.005.

8. Pothmann H., Spergser J., Elmer J., Prunner I., Iwersen M., Klein-Jöbstl D., Drillich M. Severe *Mycoplasma bovis* outbreak in an Austrian dairy herd. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2015; 27 (6): 777–783. DOI: 10.1177/1040638715603088.

9. Arcangioli M. A., Chazel M., Sellal E., Botrel M. A., Bezille P., Poumarat F., Calavas D., Le Grand D. Prevalence of *Mycoplasma bovis* udder infection in dairy cattle: Preliminary field investigation in Southeast France. *N. Z. Vet. J.* 2011; 59 (2): 75–78. DOI: 10.1080/00480169.2011.552856.

10. Surýnek J., Vrtková I., Knoll A. mycoplasma bovis was not detected in milk from dairy cattle in the Czech Republic. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun.* 2016; 64 (1): 165–168. DOI: 10.11118/actaun201664010165.

11. Filioussis G., Christodoulopoulos G., Thatcher A., Petridou V., Bourtzi-Chatzopoulou E. Isolation of *Mycoplasma bovis* from bovine clinical mastitis cases in Northern Greece. *Vet. J.* 2007; 173 (1): 215–218. DOI: 10.1016/j.tvjl.2005.08.001.

12. Bednarek D., Ayling R. D., Nicholas R. A., Dudek K., Szymańska-Czerwinska M. Serological survey to determine the occurrence of respiratory *Mycoplasma* infection in the Polish cattle population. *Vet. Rec.* 2012; 171 (2):45. DOI: 10.1136/vr.100545.

13. Al-Farha A. A., Hemmatzadeh F., Khazandi M., Hoare A., Petrovski K. Evaluation of effects of *Mycoplasma* mastitis on milk composition in dairy cattle from South Australia. *BMC Vet. Res.* 2017; 13 (1):351. DOI: 10.1186/s12917-017-1274-2.

14. Calcutt M. J., Lysnyansky I., Sachse K., Fox L. K., Nicholas R. A. J., Ayling R. D. Gap analysis of *Mycoplasma bovis* disease, diagnosis and control: An aid to identify future development requirements. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (Suppl 1): 91–109. DOI: 10.1111/tbed.12860.

15. Punyapornwithaya V., Fox L. K., Hancock D. D., Gay J. M., Alldredge J. R. Association between an outbreak strain causing *Mycoplasma bovis* mastitis and its asymptomatic carriage in the herd: A case study from Idaho, USA. *Prev. Vet. Med.* 2010; 93 (1): 66–70. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2009.08.008.

16. Dos Santos S. B., Pinheiro Júnior J. W., Oliveira A. A. F., Mota A. R., Baltazar de Oliveira J. M., Veras G. A., et al. Ocorrência de *Mollicutes* e *Ureaplasma* spp. em surto de doença reprodutiva em rebanho bovino no Estado da Paraíba. *Pesq. Vet. Bras.* 2013; 33 (3): 315–318. DOI: 10.1590/S0100-736X2013000300007.

17. Gambarini M. L., Kunz T. L., Oliveira Filho B. D., Porto R. N., Oliveira C. M., Brito W. M., Viu M. A. Granular vulvovaginitis syndrome in nelore pubertal and post pubertal replacement heifers under tropical conditions: Role of *Mycoplasma* spp., *Ureaplasma diversum* and BHV-1. *Trop. Anim. Health Prod.* 2009; 41 (7): 1421–1426. DOI: 10.1007/s11250-009-9330-y.

18. Marouf S. A., Mohamed Kh. F., EL-Jakee J. Detection of *Mycoplasma bovis* and *Mycoplasma bovigenitalium* in cattle and buffalo in Egypt using dot ELISA and PCR with anti-microbial trials. *European J. Biol. Sci.* 2011; 3 (1): 1–8. Available at: https://www.idosi.org/ejbs/3(1)11/1.pdf.

19. Macêdo A. A. M., Oliveira J. M. B., Silva B. P., Borges J. M., Soares L. B. F., Silva G. M., et al. Occurrence of *Mycoplasma bovigenitalium* and *Ureaplasma diversum* in dairy cattle from to Pernambuco state, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2018; 70 (6): 1798–1806. DOI: 10.1590/1678-4162-10132.

20. Ghanem M. E., Higuchi H., Tezuka E., Ito H., Devkota B., Izaike Y., Osawa T. *Mycoplasma* infection in the uterus of early postpartum dairy cows and its relation to dystocia and endometritis. *Theriogenology.* 2013; 79 (1): 180–185. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.09.027.

21. Cardoso M. V., Vasconcellos S. A. Importância Das Micoplasmoses Na Fertilidade de Touros. *Arquivos Do Instituto Biológico.* 2004; 71 (2): 257–265.

22. Junqueira J. R. C., Alfieri A. A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas [Reproductive failures in beef cattle breeding herds with emphasis for infectious causes]. *Semina: Ciências Agrárias.* 2006; 27 (2): 288–298. DOI: 10.5433/1679-0359.2006v27n2p289.

23. Mosier D. Review of BRD pathogenesis: The old and the new. *Anim. Health Res. Rev.* 2014; 15 (2): 166–168. DOI: 10.1017/S1466252314000176.

24. Tortorelli G., Carrillo Gaeta N., Mendonça Ribeiro B. L., Miranda Marques L., Timenetsky J., Gregory L. Evaluation of *Mollicutes* microorganisms in respiratory disease of cattle and their relationship to clinical signs. *J. Vet. Intern. Med.* 2017; 31 (4): 1215–1220. DOI: 10.1111/jvim.14721.

25. Kozlova A. D., Gorbacheva N. S., Hayerova R. F., Krasnikova M. S., Lazareva E. A., Yatsentyuk S. P. Differentiation of *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma californicum* and identification of *Ureaplasma diversum* by real-time PCR. *Agricultural Biology* [*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*]. 2019; 54 (2): 378–385. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.2.378rus. (in Russian)

26. Urban V. P., Naymanov I. L., Young cattle diseases in animal farming industry [Bolezni molodnyaka v promyshlennom zhivotnovodstve]. M.: Kolos; 1984. 207 p. (in Russian)

27. Krasikov A. P., Rudakov N. V. Mycoplasmoses of human and animals and their epidemiological and epizootical significance: monograph. Omsk: Omsk Scientific herald; 2016. 608 p. (in Russian)

28. Sukhinin A. A., Makavchik S. A., Kuzmin V. A., Fogel L. S., Orekhov D. A., Karpenko L. Yu., Kan F. L. Methodical Guidelines for livestock and poultry mycoplasmoses prevention and eradication [Metodicheskie rekomendacii po profilaktike i likvidacii mikoplazmozov sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh, v tom chisle ptic]. SPb.: FSFEI HE "Saint Petersburg State Academy of Veterinary Medicine"; 2017. 23 p. eLIBRARY ID: 30063528. (in Russian)

Поступила 10.04.2020
Принята в печать 27.05.2020

Received on 10.04.2020
Approved for publication on 27.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Абед Алхуссен Мохаммад, аспирант департамента ветеринарной медицины аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия.

Mohammad Abed Alhussen, Post-Graduate Student, Department of Veterinary Medicine, Agrarian and Technological Institute, RUDN University, Moscow, Russia.

Нестеров Александр Александрович, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Alexander A. Nesterov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Кирпиченко Владимир Владимирович, аспирант, референтная лаборатория болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Vladimir V. Kirpichenko, Post-Graduate Student, Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Яцентюк Светлана Петровна, кандидат биологических наук, заведующий отделом генодиагностики инфекционных болезней животных отделения биотехнологии ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия.

Svetlana P. Yatsentyuk, Candidate of Science (Biology), Head of the Unit for Gene Diagnosis of Infectious Animal Diseases, Department for Biotechnology, FGBI "VGNKI", Moscow, Russia.

Спрыгин Александр Владимирович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Alexander V. Sprygin, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Бьядовская Ольга Петровна, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Olga P. Byadovskaya, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Кононов Александр Владимирович, кандидат ветеринарных наук, начальник отдела диагностики и профилактики болезней сельскохозяйственных животных ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Alexander V. Kononov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Department for Livestock Disease Diagnosis and Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

УДК 619:616.98:578.831.31:616-078:578.74
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-109-114

Разработка и применение тест-системы на основе непрямого жидкофазного блокирующего варианта ИФА для определения антигена вируса РРСС при технологическом контроле вакцинного сырья

Е. П. Баборенко[1], О. П. Бьядовская[2], Д. А. Бирюченков[3], А. В. Константинов[4], Р. В. Яшин[5]
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия
[1] *ORCID 0000-0003-2177-9992, e-mail: baborenko@arriah.ru*
[2] *ORCID 0000-0002-8326-7151, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru*
[3] *ORCID 0000-0002-4057-2367, e-mail: biruchenkov@arriah.ru*
[4] *ORCID 0000-0003-0281-0667, e-mail: konstantinov@arriah.ru*
[5] *ORCID 0000-0002-1385-705X, e-mail: yashin@arriah.ru*

РЕЗЮМЕ
Одной из наиболее актуальных проблем свиноводства остается репродуктивно-респираторный синдром свиней, который является эндемичным заболеванием и регистрируется в большинстве стран мира. К основным мерам борьбы с заболеванием относятся профилактическая вакцинация, контроль за передвижением животных как внутри страны, так и за ее пределами, а также постоянное проведение диагностических исследований в популяции свиней. В качестве средств специфической профилактики репродуктивно-респираторного синдрома свиней применяются живые и инактивированные вакцины. Основным требованием, предъявляемым к инактивированным препаратам, является полная и необратимая инактивация инфекционного агента при максимальной сохранности антигенной детерминанты и иммунная защита привитых животных. Поэтому актуальной задачей является постоянное совершенствование методов контроля качества вакцин на различных технологических стадиях их производства. В статье представлены результаты разработки тест-системы на основе непрямого жидкофазного блокирующего иммуноферментного анализа для выявления и определения активности антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в инфекционных и инактивированных вируссодержащих препаратах клеточных культур на промежуточных этапах производства вакцинных биопрепаратов. Разработка тест-системы включала получение очищенного и концентрированного препарата антигена вируса, а также специфических гипериммунных сывороток крови кроликов. Специфичность очищенного и концентрированного антигена вируса подтверждали с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Показано, что разработанная тест-система позволяет выявлять антиген вируса с исходным титром инфекционной активности в диапазоне от 4,87 до 7,21 lg $ТЦД_{50}/см^3$, соответствующий значению титра (разведения) при постановке иммуноферментного анализа от 1:4 до 1:64. В результате проведенной работы были разработаны, прошли комиссионные испытания и утверждены ученым советом ФГБУ «ВНИИЗЖ» «Методические рекомендации по выявлению антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в непрямом жидкофазном блокирующем варианте иммуноферментного анализа» (2019 г.).

Ключевые слова: репродуктивно-респираторный синдром свиней, иммуноферментный анализ, антиген.

Благодарность: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Баборенко Е. П., Бьядовская О. П., Бирюченков Д. А., Константинов А. В., Яшин Р. В. Разработка и применение тест-системы на основе непрямого жидкофазного блокирующего варианта ИФА для определения антигена вируса РРСС при промежуточном контроле вакцинного сырья. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 109–114. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-109-114.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Баборенко Елена Павловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, *e-mail: baborenko@arriah.ru.*

UDC 619:616.98:578.831.31:616-078:578.74

Development and use of indirect liquid-phase ELISA test system for detection of PRRS virus antigen during in-process control of raw materials intended for vaccine production

Ye. P. Baborenko[1], O. P. Byadovskaya[2], D. A. Biryuchenkov[3], A. V. Konstantinov[4], R. V. Yashin[5]
FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia
[1] *ORCID 0000-0003-2177-9992, e-mail: baborenko@arriah.ru*

[2] *ORCID 0000-0002-8326-7151, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru*
[3] *ORCID 0000-0002-4057-2367, e-mail: biruchenkov@arriah.ru*
[4] *ORCID 0000-0003-0281-0667, e-mail: konstantinov@arriah.ru*
[5] *ORCID 0000-0002-1385-705X, e-mail: yashin@arriah.ru*

SUMMARY

Porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) being endemic and reported in the most countries in the world remains one of the most challenging diseases in pig industry. The main disease control measures include preventive vaccination and animal movement control within and outside the country as well as diagnostic testing of pigs in the population. Live and inactivated vaccines are used for specific prevention of porcine reproductive and respiratory syndrome. Complete and irreversible infectious agent inactivation with maximum epitope preservation and protective immunity in immunized animals are the main requirements for inactivated vaccines. Therefore, continuous improvement of methods for vaccine quality control at various vaccine production stages is of current importance. Results of development of the test system based on indirect liquid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for PRRS virus antigen detection and activity testing in infectious and inactivated virus-containing cell cultures at intermediate stages of the vaccine production process are described in the paper. The test-system development process included purified and concentrated virus antigen as well as hyperimmune rabbit sera preparation. Specificity of purified and concentrated virus antigen was confirmed with real-time polymerase chain reaction. The developed test-system was shown to detect the virus antigen at initial infectivity titre of 4.87–7.21 lg $TCID_{50}/cm^3$ corresponding to ELISA titre (dilution) of 1:4 up to 1:64. Methodical Guidelines for detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus antigen with indirect liquid-phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) (2019) were developed based on the work results, commissioned and approved by the FGBI "ARRIAH" Scientific Board.

Key words: porcine reproductive and respiratory syndrome, enzyme-linked immunosorbent assay, antigen.

Acknowledgements: The work was funded by the FGBI "ARRIAH" as part of the research activities "Animal health and welfare".

For citation: Baborenko Ye. P., Byadovskaya O. P., Biryuchenkov D. A., Konstantinov A. V., Yashin R. V. Development and use of indirect liquid-phase ELISA test system for detection of PRRS virus antigen during in-process control of raw materials intended for vaccine production. *Veterinary Science Today*, 2020; 2 (33): 109–114. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-109-114.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Yelena P. Baborenko, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for Porcine and Horned Livestock Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, *e-mail: baborenko@arriah.ru.*

ВВЕДЕНИЕ

Проблема репродуктивно-респираторного синдрома свиней (РРСС) была и остается актуальной в большинстве стран мира с развитым свиноводством, в том числе и в России. В настоящее время РРСС является эндемичным заболеванием, и практически все страны мира, включая Россию, США, Китай, а также страны Западной Европы, несут большие экономические потери [1, 2].

Анализ проводимых в мире мероприятий в отношении РРСС показывает, что они сводятся в основном к профилактической вакцинации, контролю за передвижением животных как внутри страны, так и за ее пределами, а также постоянному проведению диагностических исследований в популяции свиней [3]. Профилактическая вакцинация животных с каждым годом охватывает все бóльшее поголовье свиней. В связи с этим актуальной задачей является постоянное совершенствование как вакцинных препаратов, так и методов их контроля на этапах изготовления.

Известно, что изготовление противовирусных инактивированных препаратов является сложным технологическим процессом, и основное требование, предъявляемое к такой вакцине, – полная и необратимая инактивация инфекционного агента при максимальной сохранности антигенной детерминанты и иммунная защита привитых животных.

Основополагающим условием эффективности выпускаемой против РРСС вакцины является качественная и количественная характеристика вирусного антигена. Если на этапе наработки вирусного сырья инфекционную активность вируса можно контролировать методом титрования на чувствительной культуре клеток, то после его инактивации определять количественный параметр антигена РРСС, характеризующий способность индуцировать иммунный ответ, затруднительно.

Целью исследования являлась разработка метода, предоставляющего возможность определения активности антигена РРСС как в культуральном вируссодержащем сырье, так и в вакцинном полуфабрикате.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Антиген. В работе использовали вакцинный штамм «КПР-96» европейского генотипа вируса РРСС (коллекция штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ»), выращенный на перевиваемой культуре клеток Marc-145 (почки макаки-резуса), которая является трофовариантом клеточной культуры МА-104, с титром инфекционной активности 4,87–7,21 lg $ТЦД_{50}/см^3$, инактивированный аминоэтилэтиленимином.

Животные. В опытах использовали лабораторных животных – серонегативных кроликов породы шиншилла живой массой 2–2,5 кг, а также клинически здоровых поросят в возрасте двух месяцев живой массой 20–25 кг, полученных из благополучных по РРСС хозяйств.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33216-2014 и ГОСТ 33215-2014, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям

Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Специфические гипериммунные сыворотки. Использовали специфические гипериммунные сыворотки кролика, полученные в результате трехкратной иммунизации предварительно очищенным и концентрированным эмульгированным антигеном с добавлением масляного адъюванта.

Антивидовой конъюгат. В качестве антивидового конъюгата использовали иммуноглобулины против IgG (H+L) кролика, конъюгированные пероксидазой хрена (Sigma, США).

Исследуемые препараты: культуральные пробы вируса и антигена, полученные при наработке вакцинного сырья с разной инфекционной активностью, отобранные на разных стадиях производства. В качестве отрицательного контроля использовали суспензию аналогичной исследуемому образцу нормальной неинфицированной культуры клеток, а также антигены вируса болезни Ауески (БА) и возбудителя парвовирусной инфекции свиней (ПВИС). В качестве положительного контроля – вируссодержащий культуральный препарат с известным инфекционным титром.

Методы. В работе использовали общепринятые методы культивирования вируса РРСС, определения титра инфекционной активности, получения антигена путем инактивации вируса и концентрирования низкоскоростным центрифугированием; реакцию микронейтрализации (РМН); метод Бредфорда для измерения концентрации белка; полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

Иммуноферментный анализ (ИФА) проводили согласно разработанным в ФГБУ «ВНИИЗЖ» «Методическим рекомендациям по выявлению антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в непрямом жидкофазном блокирующем варианте иммуноферментного анализа» [4].

Для исследования сывороток крови свиней на наличие специфических антител против вируса РРСС использовали набор Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Antibody Test Kit (IDEXX, USA), учет результатов проводили согласно инструкции по применению набора.

Статистическая обработка результатов. Использовали стандартные методы обработки выборок варьирующих переменных, а также элементы корреляционно-регрессионного анализа. Вычислительные операции и графические построения выполняли с помощью приложения Microsoft Office Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из важных этапов при разработке тест-системы ИФА является получение активного и специфичного антигена. Вируссодержащую культуральную жидкость очищали от балластных белков и фрагментов клеток низкоскоростным центрифугированием на центрифуге Beckman Coulter J-26 XP (США) с использованием ротора JA-14 в течение 40 мин при 4500 об/мин.

Полученную осветленную надосадочную жидкость центрифугировали при 17 000 об/мин в течение 2,5 ч на центрифуге Beckman Coulter J-26 XP (США) с ротором JA-18, после чего надосадочную жидкость удаляли, а осадок ресуспендировали в 10 мл TNE-буфера.

Для дальнейшей очистки и концентрирования антигена вируса РРСС ресуспендированный осадок центрифугировали через слой 30%-й сахарозы при 27 000 об/мин на высокоскоростной центрифуге Beckman Coulter Optima L-80 XP (США) с ротором SW-28 в течение 2,5 ч. Полученный осадок ресуспендировали в TNE-буфере в соотношении 100:1 от начального объема.

Специфичность очищенного и концентрированного препарата антигена вируса РРСС подтверждали методом ПЦР-РВ. Все тестируемые в ПЦР-РВ образцы антигенов вируса имели пороговое значение меньше 35 (C_t)

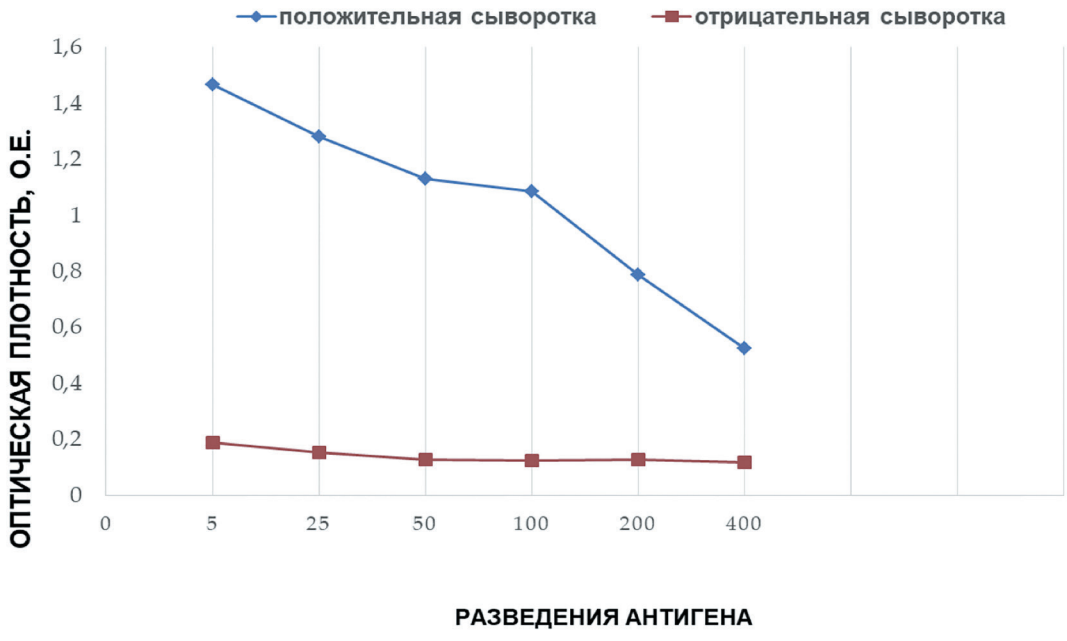


Рис. 1. Активность специфической и нормальной сывороток крови кролика в разведении 1:100

Fig. 1. Specific and normal rabbit serum activity, 1:100 dilution

Таблица 1
Сравнительная оценка инфекционной и антигенной активности вируса РРСС, определенной методом титрования и с помощью ИФА

Table 1
Comparative testing of PRRS virus for its infectivity and antigenicity with titration and ELISA

Характеристика образца	Количество проб	Среднее значение титра, lg $ТЦД_{50}/см^3$	Среднее значение титра в ИФА* (разведения)
Вируссодержащая суспензия (до инактивации)	25	4,87 ± 0,12	1:4
Вируссодержащая суспензия (до инактивации)	75	5,67 ± 0,19	1:8 – 1:16
Антигенсодержащая суспензия (инактивированная)	75	не исследовали	1:8
Вируссодержащая суспензия (×10 концентрат антигена РРСС) (до инактивации)	10	7,21 ± 0,11	1:32 – 1:64
Антигенсодержащая суспензия (×10 концентрат антигена РРСС) (инактивированная)	10	не исследовали	1:32 – 1:64
Супернатант (до инактивации)	10	1,15 ± 0,09	< 1:2
Вируссодержащая суспензия (×3 концентрат антигена РРСС) (до инактивации)	15	6,15 ± 0,14	1:16 – 1:32
Супернатант (до инактивации)	15	1,35 ± 0,12	< 1:2
Антигенсодержащая суспензия (×3 концентрат антигена РРСС) (инактивированная)	15	не исследовали	1:16 – 1:32
Супернатант (инактивированный)	15	не исследовали	< 1:2
Отрицательный контроль (культуральная жидкость нормальной неинфицированной вирусом РРСС культуры клеток)	5	0	< 1:2
Отрицательный контроль (антиген вируса ПВИС)	5	0	< 1:2
Отрицательный контроль (антиген вируса БА)	5	0	< 1:2

* Результат ИФА в титрах: > 1:2 – положительно; < 1:2 – отрицательно.

* ELISA result in titres: > 1:2 – positive; < 1:2 – negative.

и были в диапазоне от 17 до 23 (C_t), что свидетельствовало о высоком содержании вируса в препаратах.

Концентрация белка в препаратах антигена вируса РРСС, полученная по методу Бредфорда с использованием стандартных растворов бычьего сывороточного альбумина при длине волны 595 нм, составила 0,5–1,0 мг/мл. Очищенный и концентрированный антиген был использован для получения специфических гипериммунных сывороток, необходимых для разработки тест-системы на основе ИФА.

Разработка тест-системы включала в себя выбор оптимального разведения антигена, специфической гипериммунной сыворотки и антивидового конъюгата. Учет результатов реакции производился с применением спектрофотометра Sunrise (Tecan, Австрия) при длине волны 405 нм. Разработка тест-системы предусматривала подбор приемлемых буферных систем и блокирующих растворов, определение времени адсорбции компонентов реакции и температурного режима.

Оптимальное разведение антигенов определяли для каждой партии путем постановки ИФА методом последовательных разведений. За рабочее разведение принимали последнее разведение антигена, в котором значение оптической плотности (ОП) контрольной положительной сыворотки было в диапазоне от 1,0 до 1,5 о. е. (при исследовании сывороток в разведении 1:100), а значение ОП отрицательной сыворотки не превышало 0,25 о. е. Данные представлены на рисунке 1.

Исходя из полученных данных, рабочими разведениями антигена РРСС были приняты те, в которых значения ОП контрольной положительной сыворотки составляли от 1,0 до 1,2 (при исследовании сывороток в разведении 1:100), что соответствовало разведению антигена 1:50–1:100 (P/N 8,8–8,75).

Таким образом, в результате проведенной работы были разработаны, прошли комиссионные испытания и утверждены ученым советом ФГБУ «ВНИИЗЖ» «Методические рекомендации по выявлению антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в непрямом жидкофазном блокирующем варианте иммуноферментного анализа» (2019 г.) [4].

Следующим этапом работы стала оценка чувствительности и специфичности разработанной тест-системы. С использованием предложенной методики проведено исследование вируссодержащих образцов как до, так и после инактивации, а также антигена вируса на различных этапах очистки и концентрирования. Результаты представлены в таблице 1.

Как видно из данных, представленных в таблице 1, наблюдается прямая зависимость между значениями инфекционных титров и разведениями в ИФА. Так, например, 10-кратный концентрат вируса имеет

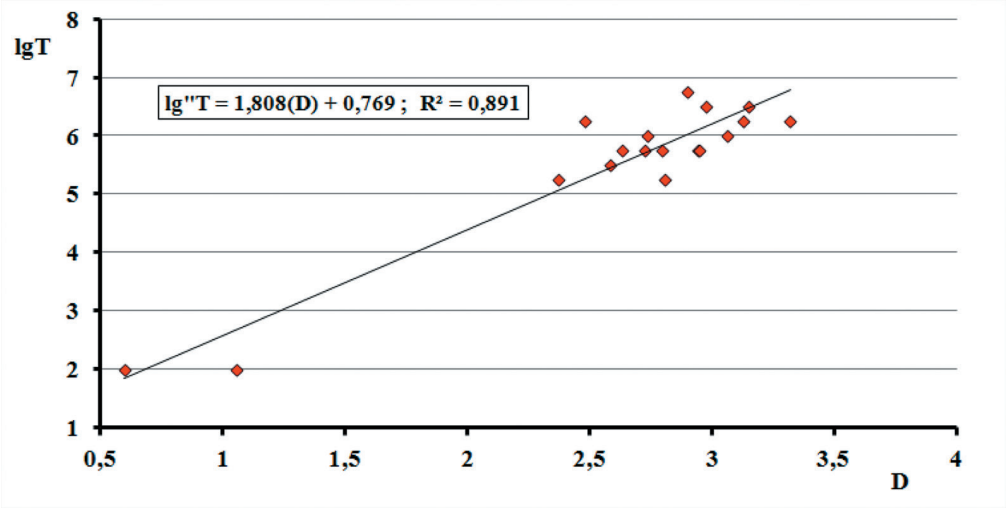


Рис. 2. Логарифмические оценки титра инфекционной активности вируса (lgT, ◆), установленные в тестируемых образцах культуральной жидкости соответственно показателям относительного количества реагирующего антигена (D) в ИФА

Fig. 2. Logarithmic titres of the virus infectivity (lgT, ◆) determined for tested cultural fluid samples corresponding to relative amounts of ELISA-reacting antigen (D)

инфекционный титр 7,21 ± 0,11 lg $ТЦД_{50}$/см³, а в ИФА – 1:32 – 1:64 как до, так и после инактивации; 3-кратный концентрат вируса имеет инфекционный титр 6,15 ± 0,14 lg $ТЦД_{50}$/см³, в ИФА – 1:16 – 1:32 как до, так и после инактивации. В то же время супернатанты с инфекционным титром 1,15 ± 0,09 и 1,35 ± 0,12 lg $ТЦД_{50}$/см³ имеют отрицательные значения в ИФА – < 1:2.

По результатам многочисленных опытов определяли зависимость между данными, полученными с применением разработанного непрямого жидкофазного варианта иммуноферментного анализа, и титром инфекционной активности вируса (T, $ТЦД_{50}$), установленным в тестируемом образце вируссодержащей культуральной жидкости. В качестве показателя, который при проведении ИФА характеризует относительное количество реагирующего антигена, приняли величину $D = K^-/S$, где K^- и S – оптические плотности отрицательного контроля и тестируемого образца соответственно. Величину D считали оценкой независимого параметра, значение lgT – оценкой зависимого параметра.

Полученные результаты в графическом виде представлены на рисунке 2.

На рисунке 2 приведена регрессионная модель исследуемых параметров вида lgT" = 1,808(D) + 0,769, где lgT" – ожидаемая величина титра для заданного значения D; показан коэффициент адекватности модели $R^2 = 0,891$.

Полученные данные свидетельствуют о том, что между относительным количеством антигена (D), реагирующего в ИФА, и логарифмической величиной титра вируса (lgT) существует выраженная корреляционная зависимость, характеризуемая коэффициентом корреляции (R = 0,944). Построенная модель соответствия указанных параметров вида lgT" = 1,808(D) + 0,769 охватывает не менее 89,1% эмпирических точек. В диапазоне 2 ≤ D ≤3,15 модель позволяет прогнозировать величину инфекционного титра образца со статистической неопределенностью (ошибкой регрессии) $m \leq 0,18$ lg.

В результате проведенных исследований показано, что разработанный чувствительный и специфичный конкурентный жидкофазный вариант ИФА может использоваться на промежуточных этапах лабораторного контроля при изготовлении антигена вируса РРСС для определения активности вакцинного полуфабриката.

В рамках лабораторного опыта проводили оценку уровня специфических антител у поросят, иммунизированных внутримышечно в дозе 2 см³ испытуемой вакциной, изготовленной из антигена с различной инфекционной активностью вируса, определенной методом титрования и с помощью разработанной

Таблица 2
Изучение антигенных свойств вакцины против РРСС инактивированной эмульгированной с различной активностью антигена

Table 2
Tests of inactivated emulsion anti-PRRS vaccine samples demonstrating different antigen activity for their antigenic properties

Вакцина против РРСС инактивированная эмульгированная	Активность вируса/антигена РРСС		Антигенная активность вакцины (средний уровень антител) по группе поросят через 28 сут после вакцинации	
	до инактивации (lg $ТЦД_{50}$/см³)	после инактивации (ИФА)	ИФА (*s/p*)	РМН (log_2)
Образец № 1	5,0	1:4	10/3* 0,31 ± 0,06	< 2,0
Образец № 2	5,75	1:8	10/8* 0,58 ± 0,1	2,74 ± 0,12
Образец № 3	6,25	1:16	10/10* 1,1 ± 0,1	3,57 ± 0,11

* Количество исследованных/положительных проб.
Значение ИФА: *s/p* < 0,4 – специфические антитела отсутствуют;
s/p ≥ 0,4 – наличие специфических антител.
Значение РМН: < 2,0 – специфические антитела отсутствуют;
≥ 2,0 – наличие специфических антител.

* Number of tested/positive samples.
ELISA result: *s/p* < 0.4 – no specific antibodies; *s/p* ≥ 0.4 – presence of specific antibodies.
MNA results: < 2.0 – no microneutralization antibodies; ≥ 2.0 – presence of specific antibodies.

тест-системы ИФА. Исследования сывороток крови поросят проводили согласно инструкции по применению набора Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus Antibody Test Kit (IDEXX, USA). Результаты представлены в таблице 2.

До вакцинации все животные были серонегативны к вирусу РРСС. Через 28 сут после иммунизации у поросят, привитых образцом вакцины № 1 с активностью антигена вируса РРСС в ИФА 1:4, только 30% животных имели специфические антитела к вирусу РРСС, в то время как образцы вакцины № 2 и № 3 с активностью антигена вируса РРСС в ИФА 1:8 и выше обеспечивали у привитого свинопоголовья формирование выраженного иммунного ответа, определяемого как в ИФА, так и в РМН.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований разработана иммуноферментная тест-система для количественной оценки антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в тестируемых образцах полуфабриката вакцины против данного заболевания на промежуточных этапах лабораторного контроля. При этом получены специфические компоненты реакции, установлены величины пороговых показателей, определена зависимость между относительным количеством антигена, реагирующим в ИФА, и логарифмической величиной титра вируса, характеризуемой коэффициентом корреляции R = 0,944. Используемый в вакцине антиген инактивированного вируса РРСС с активностью в ИФА не менее 1:8 – 1:16 способствует появлению специфического иммунитета, что подтверждается наличием специфических к вирусу РРСС антител у животных в диагностических значениях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 2, 3 см. REFERENCES)

1. Пузанкова О. С., Гаврилова В. Л., Шевцов А. А., Баборенко Е. П., Кондакова Ж. С. Выявление специфических антител к вирусу РРСС с помощью РМН. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2011; 1: 35–40. eLIBRARY ID: 15615534.

4. Баборенко Е. П., Бьядовская О. П., Кондакова Ж. С., Яшин Р. В. Методические рекомендации по выявлению антигена вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней в непрямом жидкофазном блокирующем варианте иммуноферментного анализа: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 10.01.2019 г. № 79-18. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2019. 24 с.

REFERENCES

1. Puzankova O. S., Gavrilova V. L., Shevtsov A. A., Baborenko Ye. P., Kondakova Zh. S. Detection of specific antibodies against PRRS virus using microneutralization test. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2011; 1: 35–40. eLIBRARY ID: 15615534. (in Russian)

2. Ouyang K., Hiremath J., Binjawadagi B., Shyu D. L., Dhakal S., Arcos J., et al. Comparative analysis of routes of immunization of a live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine in a heterologous virus challenge study. *Vet. Res.* 2016; 47:45. DOI: 10.1186/s13567-016-0331-3.

3. Zhou L., Kang R., Zhang Y., Yu J., Xie B., Chen C., et al. Emergence of two novel recombinant porcine reproductive and respiratory syndrome viruses 2 (lineage 3) in Southwestern China. *Vet. Microbiol.* 2019; 232: 30–41. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.01.026.

4. Baborenko Ye. P, Byadovskaya O. P., Kondakova Zh. S., Yashin R. V. Methodical Guidelines for detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus antigen with indirect liquid-phase enzyme-linked immunosorbent assay [Metodicheskie rekomendacii po vyyavleniyu antigena virusa reproduktivno-respiratornogo sindroma svinej v nepryamom zhidkofaznom blokiruyushchem variante immunofermentnogo analiza]: approved by the FGBI "ARRIAH" on 10.01.2019 No. 79-81. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2019. 24 p. (in Russian)

Поступила 28.03.2020
Принята в печать 19.05.2020

Received on 28.03.2020
Approved for publication on 19.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Баборенко Елена Павловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Бьядовская Ольга Петровна, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Бирюченков Дмитрий Анатольевич, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Константинов Алексей Владимирович, кандидат ветеринарных наук, начальник испытательного центра ветеринарных препаратов, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Яшин Роман Владимирович, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Yelena P. Baborenko, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for Porcine and Horned Livestock Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Olga P. Byadovskaya, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Dmitriy A. Biryuchenkov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Porcine and Horned Livestock Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Alexey V. Konstantinov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Veterinary Medicinal Product Testing Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Roman V. Yashin, Candidate of Science (Biology), Head of Laboratory for Porcine and Horned Livestock Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

УДК 619:591.524.1:619:578:619:616-092
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-115-121

Нидовирусы, ассоциированные с водными животными

Л. П. Бучацкий[1], В. В. Макаров[2]

[1] Институт рыбного хозяйства Национальной академии аграрных наук, Киев, Украина

[2] ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), Москва, Россия

[1] *e-mail: iridolpb@gmail.com*

[2] *ORCID 0000-0002-8464-6380, e-mail: vvm-39@mail.ru*

РЕЗЮМЕ

Нидовирусы в отношении их многочисленности, филогенеза, систематики, видовой идентификации, генетических связей внутри таксона, прогрессивной изменчивости являются наиболее сложной группировкой среди прочих вирусов. Как и другие вирусы с односпиральной РНК, нидовирусы обладают сравнительно высокой способностью к мутациям и рекомбинациям, что позволяет им быстро адаптироваться к новым хозяевам и новым экологическим нишам. Хотя бóльшая часть известных представителей нидовирусов ассоциирована с наземными хозяевами, в последнее время появляется все больше сведений о нидовирусах, изолированных из водных организмов. В обзоре анализируется современная информация о представителях отряда *Nidovirales*, ассоциированных с водными животными. Согласно современной классификации вирусов все они входят в состав восьми семейств. Наиболее изученными среди них являются члены семейств *Coronaviridae*, *Tobaniviridae* и *Roniviridae*. Представители остальных семейств нидовирусов водных животных были выявлены методом углубленного секвенирования (метагеномики), но их влияние на организм хозяев пока изучено недостаточно. Приведены данные по распространению нидовирусов среди водных животных в различных водных системах мира, описаны клинические признаки заболевания, дана краткая характеристика нидовирусов и их геномов. Предполагается возможная роль нидовирусов водных животных, как наиболее древних представителей животного мира, в эволюции нидовирусов наземных животных. Поэтому нидовирусы водных животных могут иметь большое значение для установления новых, неизвестных науке природных резервуаров, межвидового их переноса между морскими, пресноводными и наземными хозяевами.

Ключевые слова: нидовирусы, коронавирусы, тобанивирусы, ронивирусы, распространение, патогенез.

Для цитирования: Бучацкий Л. П., Макаров В. В. Нидовирусы, ассоциированные с водными животными. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 115–121. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-115-121.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Бучацкий Леонид Петрович, доктор биологических наук, профессор, Институт рыбного хозяйства Национальной академии аграрных наук, 03164, Украина, Киев-164, ул. Обуховская, 135, *e-mail: iridolpb@gmail.com*.

UDC 619:591.524.1:619:578:619:616-092

Nidoviruses associated with aquatic animals

L. P. Buchatsky[1], V. V. Makarov[2]

[1] Institute of Fisheries of the National Academy of Agrarian Sciences (NAAS), Kyiv, Ukraine

[2] People's Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia

[1] *e-mail: iridolpb@gmail.com*

[2] *ORCID 0000-0002-8464-6380, e-mail: vvm-39@mail.ru*

SUMMARY

Nidoviruses comprise the most complex grouping among other viruses with respect to their multiplicity, phylogeny, systematics, species identification, genetic relationships within a taxon, progressive variability. Like other single-stranded RNA viruses, nidoviruses have a relatively high ability to mutate and recombine, which allows them to quickly adapt to new hosts and new ecological niches. Although most of the known representatives of nidoviruses are associated with terrestrial hosts, more and more data has recently appeared on nidoviruses recovered from aquatic organisms. This review is the analysis of current data on the representatives of the order *Nidovirales* associated with aquatic animals. They are all included in the eight families based on the current classification of viruses. The most studied among them are members of the families *Coronaviridae*, *Tobaniviridae* and *Roniviridae*. Representatives of the other families of aquatic animal nidoviruses were identified using metagenomic deep sequencing (metagenomics), but their effect on the host organism has not yet been adequately studied. Data on the distribution of nidoviruses among aquatic animals in different global aquatic systems are presented, clinical signs of the disease are described, a brief description of nidoviruses and their genomes is given. Nidoviruses of aquatic animals as the earliest members of the animal kingdom are supposed to have played a possible role in the evolution of terrestrial animal nidoviruses. Therefore, aquatic animal nidoviruses could play a significant role in the formation of new natural reservoirs unknown to science, as well as in their interspecies transfer between marine, freshwater and terrestrial hosts.

Key words: nidoviruses, coronaviruses, tobaniviruses, roniviruses, spread, pathogenesis.

For citation: Buchatsky L. P., Makarov V. V. Nidoviruses associated with aquatic animals. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 115–121. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-115-121.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Leonid P. Buchatsky, Doctor of Science (Biology), Professor, Institute of Fisheries of the National Academy of Agrarian Sciences, 03164, Ukraine, Kyiv-164, Obukhovskaya str., 135, *e-mail: iridolpb@gmail.com.*

Нидовирусы (*Nidovirales*) – отряд оболочечных вирусов, содержащих односегментную линейную одноцепочечную РНК позитивной полярности – (+)РНК. Среди прочих вирусов это наиболее сложная группировка в отношении их многочисленности, филогенеза, систематики, видовой идентификации, генетических связей внутри таксона, прогрессивной изменчивости. Как облигатные паразиты нидовирусы формируют паразитарные системы с резервуарными хозяевами всех значимых в ветеринарном и медицинском отношении категорий – продуктивных и мелких домашних животных, человека, синантропов, грызунов, рукокрылых, диких животных, птиц, рыб.

Спектр патогенности нидовирусов и их эпидемиологической значимости распространяется от достаточно сбалансированных отношений взаимной толерантности с паразитосистемным хозяином, когда они остаются «сиротскими», не вызывая специфической патологии, до тяжелых, летальных, нозологически определенных эпидемических инфекций типа трансмиссивного гастроэнтерита свиней (TGEV), инфекционного перитонита кошек (FIPV), зимней диареи коров, инфекционного бронхита кур, тяжелого острого и ближневосточного респираторных синдромов через ряд промежуточных явлений клинического и эпидемического уровней. В числе последних заслуживает серьезного внимания вероятность развития факторной, условно-зависимой патологии в виде пневмоэнтеритов, возникающей при стрессовых воздействиях на организм хозяина со снижением резистентности последнего, провоцирующей нарушение паразитосистемного баланса, превращающей хозяина-носителя в активный источник инфекции (заражения) [1, 2].

Хотя бóльшая часть известных представителей нидовирусов ассоциирована с наземными хозяевами, в последнее время появляется все больше сведений о нидовирусах, изолированных из водных организмов. Некоторые нидовирусы водных животных были выявлены методом углубленного секвенирования (метагеномики) недавно, и их влияние на организм хозяев изучено недостаточно. В этой связи нидовирусы водных животных, как наиболее древних представителей животного мира, могут иметь важное значение для установления новых, неизвестных науке природных резервуаров, межвидового их переноса между морскими, пресноводными и наземными хозяевами.

Согласно современной классификации вирусов (International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), 2019) все ассоциированные с водными организмами нидовирусы входят в состав восьми семейств (таблица). Наиболее изученными среди них являются члены семейств *Coronaviridae*, *Tobaniviridae* и *Roniviridae*. Представители остальных семейств нидовирусов водных животных исследованы недостаточно.

Таблица
Нидовирусы, ассоциированные с водными организмами

Table
Nidoviruses associated with aquatic organisms

Семейство	Род	Вид	Хозяин
Coronaviridae	*Alphacoronavirus*	*Harbor seal coronavirus* (HSCoV)	Тюлень
	Gammacoronavirus	1. *Beluga whale coronavirus* (SW1) 2. *Bottlenose dolphin coronavirus* (BdCoV)	Белуха Дельфин
	Alphaletovirus	*Microhyla alphaletovirus* 1 (MLeV)	Лягушка*
Tobaniviridae	*Bafinivirus*	1. *White bream virus* (WBV) 2. *Fathead minnow nidovirus* (FHMNV)	Белый лещ Гольян
	Oncotshavirus	1. *Chinook salmon nidovirus* (CSBV) 2. *Crucian carp nidovirus (CCNV)*	Чавыча Карась
Roniviridae	*Okavirus*	1. *Gill-associated virus* (GAV) 2. *Yellow head virus* (YHV) 3. *Palaemon nidovirus* (PAN)	Креветка Креветка Краб-плавунец
Euroniviridae	*Charybnivirus*	1. *Charybnivirus* (CharNV) 2. *Decronivirus* (DecNV)	Краб Креветка
	Paguronivirus	*Paguronivirus* (PagRV)	Рак-отшельник
Mononiviridae	*Alphamononivirus*	*Planidovirus 1* (PSCNV)	Планария
Mesoniviridae	*Alphamesonivirus*	*Alphamesonivirus 1* (NDiV)	Комары*
Abyssoviridae	*Alphaabyssovirus*	*Aplysia abyssovirus 1* (AAbV)	Моллюск
Medioniviridae	*Bolenivirus*	Botrylloides leachi virus	Туникаты

* Животные, обитающие в водной среде лишь на личиночной стадии.

* Animals living in the aquatic environment only at the larval stage.

Коронавирус тюленей впервые обнаружен в США в 1987 г. у трех особей обыкновенного тюленя (*Phoca vitulina*), обитающих в морском аквапарке штата Флорида [3]. У одного из них был выявлен лейкоцитоз, сопровождавшийся обезвоживанием и гиперхлоремией, а два тюленя умерли без проявлений каких-либо клинических признаков. На вскрытии у всех трех особей были выявлены интенсивные бронхоальвеолярные геморрагии с выраженным диффузным застоем в легких. Селезенка, висцеральные и периферические лимфоузлы характеризовались лимфоидным истощением. Методом люминесценции с применением антисывороток к различным коронавирусам было показано, что положительная реакция наблюдалась только с антисыворотками к альфакоронавирусам (TGEV, FIPV, CCoV – коронавирусный энтерит собак) и отсутствовала в случае применения антисыворотки к бетакоронавирусу крупного рогатого скота (BCoV). На этом основании было принято решение отнести данный вирус (HSCoV) к роду *Alphacoronavirus*. Частичная последовательность нуклеотидов коронавируса морских котиков находится в GenBank (NCBI) под номером FJ766501 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/FJ766501.1/).

В июне 2000 г. на центральном побережье Калифорнии среди стада отдыхающих тихоокеанских

тюленей (*Phoca vitulina richardsii*) обнаружили мертвыми 21 особь (рис. 1) [4].

Из патологического материала от погибших тюленей было изолировано три различных вируса. У пяти животных с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) был выделен коронавирус. При биопсии у погибших тюленей были выявлены застои в легких и обширные геморрагии.

Коронавирус белухи (*Delphinapterus leucas*), представителя семейства нарваловых, отряда китообразных, обитающей во всех прибрежных водах морей Арктического бассейна, а также Белого, Берингова, Охотского, иногда Балтийского морей, впервые выявлен в США в 2008 г. и назван SW1 [5]. Родившийся в неволе самец белухи умер от печеночной недостаточности после острой генерализованной болезни легких. Гистологическими исследованиями в печени были установлены многочисленные красно-желтые некрозы (рис. 2).

При электронной микроскопии в инфицированных тканях обнаружены сферические вирусные частицы диаметром 60–80 нм. Попытки культивировать изолят вируса в перевиваемых культурах клеток были безуспешными. Геном вируса содержит 31 700 нуклеотидов и кодирует неструктурные (ORF1 и ORF1b) и структурные (ORF2, ORF3, ORF4 и ORF11) белки. Нуклеотидная последовательность SW1 была депонирована в GenBank (NCBI) под номером EU111742. В 2008 г. при изучении последовательности аминокислот родства с известными коронавирусами выявлено не было. В настоящее время установлено его близкое родство с коронавирусом афалины [6].

Коронавирус афалины, или бутылконосого дельфина (*Tursiops truncatus*), обитающего в умеренных и теплых водах Мирового океана, а также в Средиземном, Балтийском и Черном морях, выявлен китайскими исследователями в 2014 г. [6]. Вирус получил название BdCoV. При изучении полной последовательности генома установлено, что он близок к коронавирусу белухи (SW1) и принадлежит вместе с ним к гаммакоронавирусам.

Геном BdCoV содержит 32 000 нуклеотидов и в 2014 г. являлся самим большим среди всех известных коронавирусов. Большие размеры его генома связаны с многократным повторением одной из открытых рамок считывания (NS5a, NS5b, NS5c, NS6, NS7, NS8, NS9, NS10), находящейся между генами M и N. Основное различие между двумя вышеуказанными коронавирусами заключается в генах, кодирующих белки шипов (S) [6].

Коронавирус лягушки (MLeV) выявлен с помощью метагеномного анализа общего пула внутриклеточной РНК карликовой лягушки *Microhyla fissipes* [7]. Эта лягушка размером до 3–4 см широко распространена во многих странах Юго-Восточной Азии. Геном вируса содержит 22 304 нуклеотида, последовательность нуклеотидов представлена в GenBank под номером GECV01031551. В процессе метаморфоза лягушек количество вирусных транскриптов уменьшается в 7–14 раз, у взрослых лягушек они вовсе не выявляются [7].

Бафинивирусы карповых рыб выделены в отдельный род (*Bafinivirus*), который входит в состав семейства *Tobaniviridae*. Название рода составлено из первых двух букв английских слов **ba**cilla, **fi**sh и **ni**dovirus и обусловлено тем, что вирус имеет форму бациллы (рис. 3).

Первый бафинивирус рыб изолирован немецкими ихтиопатологами от белого амура (*Ctenopharyngodon idella*) в 1987 г. [8]. Белый амур интродуцирован

Рис. 1. Тихоокеанские тюлени (Phoca vitulina richardsii) на побережье Центральной Калифорнии

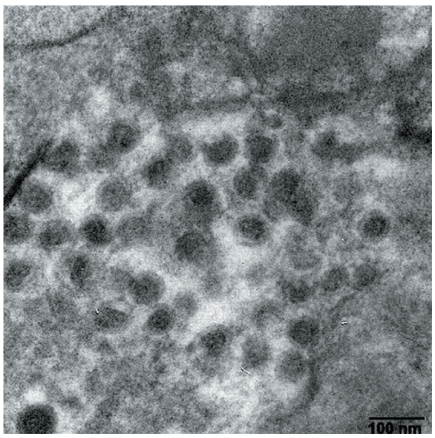
Fig. 1. Pacific seals (Phoca vitulina richardsii) on the Central California coast (https://specials-images.forbesimg.com/imageserve/1170425445/960x0.jpg?fit=scale)

во многие страны и сейчас занимает первое место в мире по объемам товарного выращивания. Вирус белого амура был выявлен у внешне здоровых особей из Венгрии в процессе трансграничного ветеринарного контроля. Вирусный изолят хорошо размножался в перевиваемых клетках, полученных из плавников золотой рыбки *Carassius auratus* (CAR), в лейкоцитах карпа *Cyprinus carpio* (CLC), в каудальных стволовых клетках толстоголового гольяна *Pimephales promelas* (FHM) при температурах 15–25 °C. Инфицированные клетки со временем слипались между собой, затем происходил лизис. Электронно-микроскопическими исследованиями пораженных клеток было установлено, что вирусные частицы имеют форму бациллы длиной 170–220 нм, диаметром 50–55 нм. С помощью окраски клеток раствором оранжевого акридина было показано, что вирус содержит однонитчатую РНК. Вирус инактивируется хлороформом и в кислых средах (pH 3,0), а также при температуре 56 °C.

Через год подобный вирус был выявлен в Японии во время вспышки острой инфекции обыкновенного карпа (*Cyprinus carpio*). У пораженных особей наблюдалась эритема в области брюшка и некрозы в печени и почках. Передача вируса молоди карпа осуществлялась через воду при температуре 20 °C. В этой же стране бафинивирус был описан у цветного карпа (*C. carpio haematopterus*) при изучении заболевания под названием «ана-аки-био» [9]. Поражения у карпа наблюдались в висцеральных органах, вирусные частицы выявляли в гематопоэтических тканях и селезенке. В инфицированных клетках папилломатозной эпителиомы карповых рыб (EPC) вирус вызывает кариопикноз и происходит формирование внутриклеточных вакуолей.

Бафинивирус белого леща, или густеры (*Blicca bjoerkna* L.), широко распространенного в бассейнах Балтийского, Черного и Каспийского морей, в странах Европы и Закавказья, впервые изолирован в Германии при исследовании здоровья рыб из естественной среды [10]. В англоязычной литературе вирус обозначен как WBV. Вирус не вызывает видимых патологических изменений в организме белого леща, его действие проявляется лишь в перевиваемых культурах клеток рыб.

A



B

Рис. 2. А. Некрозы в печени белухи, пораженной коронавирусом SW1. В. Скопления сферических вирусных частиц в инфицированных тканях [5]

Fig. 2. A. Necrosis areas in the liver of the beluga whale affected by SW1 coronavirus. B. The aggregates of spherical viral particles in infected tissues [5] (https://jvi.asm.org/content/jvi/82/10/5084/F1.large.jpg)

Вирусные частицы WBV имеют типичную для бафинивирусов форму бациллы длиной 130–160 нм и диаметром 37–45 нм. Вирион покрыт липидной оболочкой, на которой расположены отростки высотой 25 нм. Полиаденилированная РНК WBV имеет пять генов, кодирующих открытые рамки считывания: ORF1a, ORF1b, ORF 2, ORF 3 и ORF 4. Ген ORF1a/1b кодирует полипротеины pp1a и pp1ab, содержащие протеиназу, полимеразу и другие ферменты репликации, общие для всех нидовирусов, а ORF2, ORF3 и ORF4 – гликопротеин отростков (S), мембранный (M) и нуклеокапсидный (N) белки соответственно [11].

Бафинивирус толстоголового гольяна (*Pimephales promelas*) выявлен в США в 1997 г. [12]. Гольяны (*Phoxinus*) – род мелких, размером не более 20 см, пресноводных рыб семейства карповых. Вирус получил название *Fathead minnow virus* (FHMNV). Он размножается в перевиваемых клетках EPC, FHM и RTG (из гонад радужной форели) при температурах от 15 до 25 °C. В клетках, инфицированных FHMNV, происходит образование синтициев.

Заболевание толстоголового гольяна проявляется в поведенческих изменениях, характеризующихся тем, что рыбы сначала беспорядочно плавают по кругу, а затем становятся вялыми и опускаются на дно аквариума либо зависают у поверхности воды с направленной вверх головой. Течение болезни зависит от температурного режима. В воде с температурой 19 °C смертность наступает уже через 3 сут после заражения, а при температуре воды 17 °C – через 13 сут после заражения. У инфицированных особей наблюдаются геморрагические высыпания на коже, а также в печени, почках и селезенке. Также могут быть кровоизлияния в мышцы, почки у многих рыб становятся видимыми из-за их потемнения и отека мускулатуры. FHMNV обладает высокой видоспецифичностью, к нему нечувствительны канальный сом, карась и золотистый синец [12].

Вирионы FHMNV имеют форму бацилл длиной 130–185 нм и диаметром 31–47 нм. Установлена полная последовательность нуклеотидов вируса [11]. Однонитчатая РНК вируса содержит 27 000 нуклеотидов и имеет сходство с коронавирусом белого леща. Филогенетический анализ консервативного геликазного домена FHMNV показал, что он является ближайшим родственником WBV. Сравнение генных продуктов геликазы (домен pp1ab), S, M, N и ORF1ab с продуктами гена WBV показывает различные уровни гомологии, которые варьируют от 15 (белок S) до 70% (геликаза) [13].

Нидовирус чавычи (*Oncorhynchus tshawytscha*) впервые выявлен в Канаде в 2014 г. [14]. Вирус получил название CSBV. Он реплицируется и индуцирует цитопатические эффекты в клетках RTG-2 и EPC при 15, 20 и 25 °C. Вирусные частицы имеют палочковидную форму диаметром 45 нм и длиной 120–130 нм. Геном вируса содержит 27 004 нуклеотида с организацией генов, соответствующей нидовирусам. Полная последовательность нуклеотидов находится в базе данных GenBank (NCBI) под номером KJ681496. По аминокислотному составу установлено, что этот вирус родственен WBV и FHMNV [15].

Второй вирус лососевых выявлен канадскими исследователями у атлантического лосося (*Salmo salar*) [15]. Вирус получил название ASBV. При изучении полной последовательности нуклеотидов его генома установлено, что он на 99% схож с коронавирусом чавычи (CSBV). Однако у него имеется большая делеция в гене полипротеина репликазы pp1a. Анализ последовательности генома также выявил предполагаемый шестой белок, который может представлять собой белок оболочки [15, 16]. Широкий спектр чувствительности перевиваемых культур клеток к этому вирусу может свидетельствовать о широком круге его хозяев в естественной среде.

Нидовирус карася, или золотой рыбки (*Carassius auratus*), впервые описан китайскими учеными в 2019 г. [17]. Вирус получил название CCNV (*Crucian carp nidovirus*). Геном CCNV содержит 25 971 нуклеотид, имеет пять открытых рамок считывания, кодирующих полипротеин 1ab (pp1ab), гликопротеин пепломеров (S), белок мембран (M) и белок нуклеокапсида (N). По организации генома этот вирус близок к нидовирусу чавычи.

Окавирус креветок. Нидовирусы креветок входят в состав рода *Okavirus* семейства *Roniviridae*. В названии семейства объединены два слова, которые обозначают форму вириона (**ro**d – палочка) и таксономическое название отряда (***Ni**dovirales*). Название рода *Okavirus* происходит от названия лимфоидного органа креветок (от англ. oka), в котором вирус обнаруживается наиболее часто. Окавирусы представляют собой

комплекс, состоящий из шести генотипов. Генотип 1 – это окавирус креветок YHV, вызывающий заболевание у тигровой креветки (*Penaeus monodon*) под названием «желтая голова»; генотип 2 – окавирус, ассоциированный с жабрами креветок (GAV); вирусы генотипов 3–6 являются слабопатогенными и не вызывают проявлений признаков заболевания.

Впервые болезнь «желтая голова» описана в Таиланде у тигровой креветки. На начальных стадиях у креветок в течение нескольких дней отмечается необычно высокий аппетит, но вскоре после этого они внезапно перестают питаться, происходит опухание пищеварительных желез. Днем позже зараженные особи начинают хаотично и беспокойно плавать вблизи поверхности воды [18]. YHV может поражать креветок и других видов, а также некоторые виды криля. В настоящее время вирус выявлен во всей Юго-Восточной Азии, Австралии, Америке и Восточной Африке [19, 20]. YHV приводит к 90–100%-й гибели креветок в течение 3–5 сут после проявления первых симптомов. У них часто наблюдают белесоватые или бледно-желтые жабры и бледно-желтый гепатопанкреас (парные придатки средней кишки беспозвоночных, соединяющие в себе функцию поджелудочной железы и печени). Еще через сутки головогрудь креветок приобретает интенсивно желтый цвет. Затем количество пораженных инфекцией особей резко увеличивается, и на третьи сутки после появления симптомов гибнет все поголовье. После окончания эпизоотии при температуре 25–28 °C вирус YHV может оставаться жизнеспособным в воде около 4 сут.

К окавирусу GAV наиболее восприимчивы личинки креветок, масса которых составляет 5–15 г [21, 22]. Взрослые креветки также восприимчивы к вирусу. Заражение коронавирусом происходит при поедании креветками погибших особей или может осуществляться напрямую через зараженную воду и инфицированные сети или инструменты. У инфицированных особей течение заболевания может быть как острым, так и хроническим, возбудитель передается как горизонтально, так и вертикально. Смертность креветок в случае острого течения болезни бывает значительной, и вирус при этом обнаруживается в большинстве тканей экто- и мезодермального происхождения, наиболее часто – в лимфоидном органе. В некротических клетках присутствуют базофильные цитоплазматические включения.

Вирионы окавирусов креветок имеют внешнюю оболочку, палочковидную форму с закругленными концами размером 40–60 × 150–200 нм. Оболочка усеяна шипами (пепломерами), выступающими примерно на 11 нм над поверхностью вириона. Нуклеокапсиды имеют диаметр 20–30 нм и спиральную симметрию с периодичностью 5–7 нм. В цитоплазме инфицированных клеток присутствуют длинные нитевидные предшественники нуклеокапсида (приблизительно 15 нм в диаметре и длиной 80–450 нм), там они приобретают оболочки путем почкования на мембранах эндоплазматического ретикулума. Вновь образованные зрелые вирионы часто появляются в виде скоплений, в результате чего могут возникать их паракристаллические упаковки.

Окавирусы креветок содержат один линейный сегмент однонитчатой РНК позитивного смысла, длина которой варьирует от 26 235 нуклеотидов для вируса GAV до 26 662 нуклеотидов для YHV. У окавируса YHV

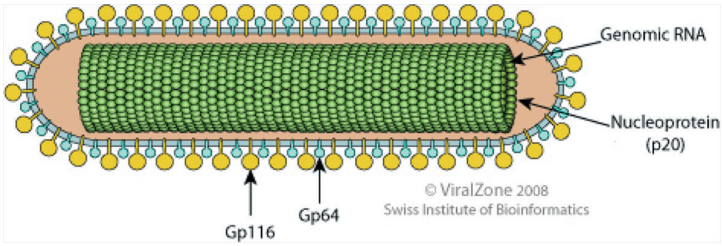


Рис. 3. Схема строения бафинивирусов

Fig. 3. Schematic structure of bafiniviruses (https://viralzone.expasy.org/resources/Roniviridae_virion.jpg)

ORF4 значительно укорочена по сравнению с другими известными генотипами и не всегда может экспрессироваться. Доступна полная последовательность генома GAV и частичные последовательности генома YHV [21].

В семейство *Roniviridae*, наряду с родом *Okavirus*, предполагается включить новый род, единственным представителем которого пока является нидовирус, изолированный от китайского мохнаторукого краба *Eriocheir sinensis* [23]. Этот краб – опасный инвазивный вид, распространившийся из Желтого моря во многие страны Европы и Северной Америки. Встречается в Карелии и на Волге. Нидовирус краба (EsRNV, *Eriocheir sinensis ronivirus*) вызывает заболевание под названием «болезнь вздохов», так как пораженные крабы ночью издают звуки, похожие на вздохи. Вирионы EsRNV палочковидные, диаметром 16–18 нм и длиной 15–20 нм, иногда до 400 нм. При экспериментальном инфицировании 100%-я гибель крабов наступает через 13–17 сут. Вирусные частицы присутствуют в соединительных тканях многих органов, включая жабры, гепатопанкреас, сердце, кишечник и яичники [23].

Геномы представителей семейства *Euroniviridae* изучены с использованием методов биоинформатики, однако биологические свойства этих нидовирусов пока недостаточно известны.

Нидовирус планарии описан в конце 2018 г. у средиземноморской планарии *Schmidtea mediterranea* [24]. Это один из видов плоских червей, обитающий в пресной воде на островах Средиземного моря, в Испании и Тунисе, является ценным объектом для изучения процессов регенерации. Нидовирус планарии выявлен путем метагеномного анализа общего пула внутриклеточной РНК. Получил название *Planarian secretory cell nidovirus* (PSCNV). Размножается в секреторных клетках планарий. С помощью электронной микроскопии показано, что в цитоплазме инфицированных клеток находятся сферические, слегка удлиненные, связанные с мембранами эндоплазматического ретикулума вирусные частицы диаметром 90–150 нм. PSCNV содержит в составе генома 40 671 нуклеотид [24]. В настоящее время это самый крупный геном среди всех известных РНК-вирусов.

Основным отличием PSCNV от других нидовирусов является наличие в составе его генома необычно большой рамки считывания ORF1b. По-видимому, PSCNV давно отделился от нидовирусов и приобрел дополнительные гены, присущие крупным ДНК-содержащим вирусам, а именно гены, кодирующие анкирин и фибронектин. Вновь приобретенные гены, возможно, могут существенно влиять на процессы взаимодействия вируса с новыми хозяевами [24].

Нидовирус комаров выявлен во Вьетнаме методом метагеномного анализа из пула кровососущих комаров рода *Culex* [25]. Из-за названия местности, где собирали комаров для исследования, вирус получил название Nam Dinh (NDiV). Патологических изменений у комаров он не вызывает. Вирус размножается в перевиваемых культурах клеток комаров C6/36, полученных из представителей вида *Aedes albopictus*. Вирионы сферические, диаметром 60–80 нм. Геном вируса содержит 20 192 нуклеотида, имеет 5 открытых рамок считывания. По строению генома этот вирус выделен в отдельное семейство *Mesoniviridae,* являющееся переходным от «крупных нидовирусов» до «мелких» (*Arteriviridae*).

Нидовирус аплизии, или морского зайца (*Aplysia*), одного из крупнейших представителей моллюсков, достигающих 1 м длиной, растительноядного, обитающего в теплых и субтропических морях, описан одновременно двумя независимыми группами исследователей [7, 26]. Как и вирус планарии, нидовирус аплизии также выявлен с помощью метагеномного анализа общего пула внутриклеточной РНК брюхоногого моллюска *Aplysia californica*. Результаты биоинформационных вычислений с помощью программы BLAST показали, что по строению генома этот вирус имеет характеристики, свойственные нидовирусам. Вирус получил название AAbV. Геном содержит 35 906 нуклеотидов, что указывает на его принадлежность к «крупным» нидовирусам. Самое большое количество РНК вируса находится в нейронах, ее выявляют также в жабрах, слюнных железах и в мышцах. Схожие нидовирусы были описаны у туникат (*Botrylloides leachi*), морской улитки (*Turritella* sp.) и других водных организмов [27, 28].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ имеющейся по данной теме литературы свидетельствует, что применение принципов геномной идентификации на основе метагеномики представляет возможность выявления непредсказуемого количества новых вирусов, как это следует из распространения нидовирусов среди водных животных. Изучение глобальной виросферы значительно расширяет сведения о потенциальных резервуарах эмерджентных патогенов [29]. Общепризнанным является тот факт, что преобладающее их большинство имеет зоогенное происхождение [30]. В последнее время в связи со вспышкой тяжелого коронавирусного заболевания COVID-19 [31] интерес к этой группе вирусов значительно возрос. Как и другие вирусы с односпиральной РНК, нидовирусы обладают сравнительно высокой способностью к мутациям и рекомбинациям, что позволяет им быстро адаптироваться к новым хозяевам и новым экологическим нишам [2, 13, 32]. Например, описаны случаи выявления коронавирусов, подобных коронавирусу SARS-CoV-1, у людей, гималайских пальмовых циветт и енотовидной собаки [33]. Филогенетический анализ геномов различных нидовирусов животных свидетельствует о том, что многие из них могут быть потомками нидовирусов водных животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 2–28, 30–33 см. REFERENCES)

1. Макаров В. В., Лозовой Д. А. Коронавирусные зоонозы, ассоциированные с рукокрылыми. *Ветеринария сегодня*. 2016; 2: 66–70. Режим доступа: https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/251.

29. Макаров В. В. Метагеномный анализ – новая методология и направление в инфекционной диагностике. *Вестник РАСХН*. 2014; 1: 28–30. eLIBRARY ID: 21481767.

REFERENCES

1. Makarov V. V., Lozovoy D. A. Coronavirus zoonozes associated with *Chiroptera*. *Veterinary Science Today*. 2016; 2: 66–70. Available at: https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/251. (in Russian)

2. Lai M. M., Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. *Adv. Virus. Res.* 1997; 48: 1–100. DOI: 10.1016/S0065-3527(08)60286-9.

3. Bossart G. D., Schwartz J. C. Acute necrotizing enteritis associated with suspected coronavirus infection in three harbor seal (*Phoca vitulina*). *J. Zoo Wildl. Med.* 1990; 21 (1): 84–87. Available at: http://www.jstor.org/stable/20095024.

4. Nollens H. H., Wellehan J. F., Archer L., Lowenstine L. J., Gulland F. M. Detection of a respiratory coronavirus from tissues archived during a pneumonia epizootic in free-ranging Pacific harbor seals *Phoca vitulina richardsii*. *Dis. Aquat. Organ.* 2010; 90 (2): 113–120. DOI: 10.3354/dao02190.

5. Mihindukulasuriya K. A., Wu G., St Leger J., Nordhausen R. W., Wang D. Identification of a novel coronavirus from a beluga whale by using a panviral microarray. *J. Virol.* 2008; 82 (10): 5084–5088. DOI: 10.1128/JVI.02722-07.

6. Woo P. C., Lau S. K., Lam C. S., Tsang A. K., Hui S. W., Fan R. Y., et al. Discovery of a novel bottlenose dolphin coronavirus reveals a distinct species of marine mammal coronavirus in Gammacoronavirus. *J. Virol.* 2014; 88 (2): 1318–1331. DOI: 10.1128/JVI.02351-13.

7. Bukharia A., Mulley G., Gulyaeva A. A., Zhao L., Shu G., Jiang J., et al. Description and initial characterization of metatranscriptomic nidovirus-like genomes from the proposed new family *Abyssoviridae*, and from a sister group to the *Coronavirinae*, the proposed genus *Alphaletovirus*. *Virology.* 2018; 524: 160–171. DOI: 10.1016/j.virol.2018.08.010.

8. Ahne W., Jiang Y., Thomsen I. A new virus isolated from cultured grass carp *Ctenopharyngodon idella*. *Dis. Aquat. Organ*. 1987; 3: 181–185. Available at: http://www.int-res.com/articles/dao/3/d003p181.pdf.

9. Miyazaki T., Okamoto H., Kageyama T., Kobayashi T. Viremia-associated ana-aki-byo, a new viral disease in color carp *Cyprinus carpio* in Japan. *Dis. Aquat. Organ.* 2000; 9: 183–192. DOI: 10.3354/dao039183.

10. Granzow H., Weiland F., Fichtner D., Schütze H., Karger A., Mundt E., et al. Identification and ultrastructural characterization of a novel virus from fish. *J. Gen. Virol.* 2001; 82 (Pt 12): 2849–2859. DOI: 10.1099/0022-1317-82-12-2849.

11. Schütze H., Ulferts R., Schelle B., Bayer S., Granzow H., Hoffmann B., et al. Characterization of White bream virus reveals a novel genetic cluster of nidoviruses. *J. Virol.* 2006; 80 (23): 11598–11609. DOI: 10.1128/JVI.01758-06.

12. Iwanowicz L. R., Goodwin A. E. A new bacilliform fathead minnow rhabdovirus that produces syncytia in tissue culture. *Arch. Virol*. 2002; 147 (5): 899–915. DOI: 10.1007/s00705-001-0793-z.

13. Batts W. N., Goodwin A. E., Winton J. R. Genetic analysis of a novel nidovirus from fathead minnows. *J. Gen. Virol.* 2012; 93 (Pt 6): 1247–1252. DOI: 10.1099/vir.0.041210-0.

14. Lord S. D., Raymond M. J., Krell P. J., Kropinski A. M., Stevenson R. M. W. Novel chinook salmon bafinivirus isolation from Ontario fish health monitoring. In: *Proceedings of the Seventh International Symposium on Aquatic Animal Health* (August 31 – September 4). Portland, Oregon, United States. 2014; 242 p.

15. Mordecai G. J., Miller K. M., Di Cicco E., Schulze A. D., Kaukinen K. H., Ming T. J., et al. Endangered wild salmon infected by newly discovered viruses. *eLife.* 2019; 8:e47615. DOI: 10.7554/eLife.47615.

16. Durzynska I., Sauerwald M., Karl N., Madhugiri R., Ziebuhr J. Characterization of a bafinivirus exoribonuclease activity. *J. Gen. Virol.* 2018; 99 (9): 1253–1260. DOI: 10.1099/jgv.0.001120.

17. Xiao-yu C., Yong Z., Xin C., Jian Z., Xian-Dong Z., Feng J., et al. Isolation and genetic analysis of a nidovirus from crucian carp (*Carassius auratus*). *Arch. Virol.* 2019; 164 (6): 1651–1654. DOI: 10.1007/s00705-019-04221-0.

18. Chantanachookin C., Boonyaratpalins S., Kasornchandra J., Direkbusarakom S., Ekpanithanpong U., Supamataya K., et al. Histology and ultrastructure reveal a new granulosis-like virus in *Penaeus monodon* affected by yellow-head disease. *Dis. Aquat.Organ.* 1993; 17: 145–157. Available at: http://www.int-res.com/articles/dao/17/d017p145.pdf.

19. Flegel T. W., Boonyaratpalin S., Withyachumnarnkul B. Progress in research on yellow-head virus and white-spot virus in Thailand. In: *Diseases in Asian Aquaculture III*. eds. T. Flegel, I. MacRae. Manila: Asian Fisheries Society. 1997; 285–296.

20. Wongteerasupaya C., Sriurairatana S., Vickers J. E., Akrajamorn A., Boonsaeng V., Panyim S., et al. Yellow-head virus of *Penaeus monodon* is an RNA virus. *Dis. Aquat. Organ.* 1995; 22 (1): 45–50. DOI: 10.3354/dao022045.

21. Cowley J. A., Dimmock C. M., Spann K. M., Walker P. J. Gill-associated virus of *Penaeus monodon* prawns: an invertebrate virus with ORF1a and ORF1b genes related to arteri- and coronaviruses. *J. Gen. Virol*. 2000; 81 (Pt 6): 1473–1484. DOI: 10.1099/0022-1317-81-6-1473.

22. Cowley J. A., Hall M. R., Cadogan L. C., Spann K. M., Walker P. J. Vertical transmission of gill-associated virus (GAV) in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Organ.* 2002; 50 (2): 95–104. DOI: 10.3354/dao050095.

23. Zhang S., Bonami J.-R. A roni-like virus associated with mortalities of the freshwater crab, *Eriocheir sinensis* Milne Edwards, cultured in China, exhibiting 'sighs disease' and black gill syndrome. *J. Fish Dis.* 2007; 30 (3): 181–186. DOI: 10.1111/j.1365-2761.2007.00796.x.

24. Saberi A., Gulyaeva A. A., Brubacher J. L., Newmark P. A., Gorbalenya A. E. A planarian nidovirus expands the limits of RNA genome size. *PLoS Pathog.* 2018; 14 (11):e1007314. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007314.

25. Nga P. T., Parquet Md. C., Lauber C., Parida M., Nabeshima T., Yu F., et al. Discovery of the first insect nidovirus, a missing evolutionary link in the emergence of the largest RNA virus genomes. *PLoS Pathog.* 2011; 7 (9):e1002215. DOI: 10.1371/journal.ppat.1002215.

26. Debat H. J. Expanding the size limit of RNA viruses: Evidence of a novel divergent nidovirus in California sea hare, with a ~35.9 kb virus genome. *BioRxiv.* 2018; preprint DOI: 10.1101/307678.

27. Shi M., Lin X. D., Tian J. H., Chen L. J., Chen X., Li C. X., et al. Redefining the invertebrate RNA virosphere. *Nature*. 2016; 540 (7634): 539–546. DOI: 10.1038/nature20167.

28. Shi M., Lin X. D., Chen X., Tian J. H., Chen L. J., Li K., et al. The evolutionary history of vertebrate RNA viruses. *Nature.* 2018; 556 (7700): 197–202. DOI: 10.1038/s41586-018-0012-7.

29. Makarov V. V. Metagenome analysis – new methodology and line in infection diagnostics. *Vestnik of the Russian agricultural sciences.* 2014; 1: 28–30. eLIBRARY ID: 21481767. (in Russian)

30. Taylor L. H., Latham S. M., Woolhouse M. E. Risk factors for human disease emergence. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2001; 356 (1411): 983–989. DOI: 10.1098/rstb.2001.0888.

31. Xu X., Chen P., Wang J., Feng J., Zhou H., Li X., et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci. China Life Sci*. 2020; 63 (3): 457–461. DOI: 10.1007/s11427-020-1637-5.

32. Wijegoonawardane P. K., Cowley J. A., Phan T., Hodgson R. A., Nielsen L., Kiatpathomchai W., et al. Genetic diversity in the yellow head nidovirus complex. *Virology.* 2008; 380 (2): 213–225. DOI: 10.1016/j.virol.2008.07.005.

33. Guan Y., Zheng B. J., He Y, Q., Liu X. L., Zhuang Z. X., Cheung C. L., et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in Southern China. *Science.* 2003; 302 (5643): 276–278. DOI: 10.1126/science.1087139.

Поступила 07.04.2020
Принята в печать 28.04.2020

Received on 07.04.2020
Approved for publication on 28.04.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бучацкий Леонид Петрович, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологий в рыбоводстве Института рыбного хозяйства НААН, Киев, Украина.

Макаров Владимир Владимирович, доктор биологических наук, профессор ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Москва, Россия.

Leonid P. Buchatsky, Doctor of Science (Biology), Professor, Leading Researcher, Laboratory for Fishery Biotechnology, Institute of Fisheries of the National Academy of Agrarian Sciences, Kyiv, Ukraine.

Vladimir V. Makarov, Doctor of Science (Biology), Professor, RUDN University, Moscow, Russia.

УДК 619:616.155.394:636.8:616-022
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-122-126

Изучение клинических симптомов при панлейкопении у кошек на территории Донецкой Народной Республики

И. В. Бердюкова[1], П. А. Руденко[2]

[1] ГОУ ЛНР «Луганский национальный аграрный университет» (ГОУ ЛНР ЛНАУ), г. Луганск, Луганская Народная Республика

[2] Филиал ФГБУ «Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» Российской академии наук, г. Пущино, Россия

[1] *e-mail: gandy_78@mail.ru*

[2] *ORCID 0000-0002-0418-9918, e-mail: pavelrudenko76@yandex.ru*

РЕЗЮМЕ

Панлейкопения кошек – высококонтагиозное вирусное заболевание представителей семейства кошачьих, возбудителем которого является ДНК-содержащий вирус из семейства *Parvoviridae*. После заражения вирус обнаруживается в слюне, в отделяемом из носа, моче и фекалиях, распространяется через экскременты, с водой и пищей, а также, по некоторым данным, через кровососущих насекомых. Болезнь сопровождается поражениями органов желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, кроветворной ткани. В статье рассмотрены клинические признаки у кошек при заболевании панлейкопенией на территории Донецкой Народной Республики. На основании отчетных документов государственной больницы ветеринарной медицины и благотворительного питомника города Ясиноватая, а также частных ветеринарных клиник и ветеринарного кабинета города Донецка предложена классификация клинических признаков заболевания среди домашних и бродячих кошек, сгруппированных по частоте встречаемости и возрастным группам. Показано, что территория Донецкой Народной Республики является неблагополучной по заболеваемости панлейкопенией среди кошек. Так, за период с 2015 по 2018 г. ситуация характеризовалась ростом заболеваемости бродячих животных с вовлечением в эпизоотический процесс домашних кошек. Установлено, что большинство клинических симптомов панлейкопении регистрируются у всех возрастных категорий кошачьих вне зависимости от половой принадлежности. Отмечены специфические симптомы, характерные для разных возрастных категорий. Установлено, что показатели заболеваемости панлейкопенией бродячих котят возрастной группы 0–12 месяцев в 1,8 раза выше по отношению к домашним котятам той же возрастной категории. У взрослых домашних кошек заболевание регистрировали в 2,4 раза реже по сравнению с бездомными кошками. Показано, что количество случаев заболевания среди самок в 1,5 раза выше по сравнению с заболеванием среди самцов. Сделан вывод, что нарушение правил карантина и недостаточный охват кошек вакцинацией являются факторами риска возникновения очагов заболевания и приводят к многократным повторным вспышкам болезни.

Ключевые слова: ветеринария, панлейкопения, кошки, клинические симптомы, заболеваемость.

Для цитирования: Бердюкова И. В., Руденко П. А. Изучение клинических симптомов при панлейкопении у кошек на территории Донецкой Народной Республики. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 122–126. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-122-126.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Бердюкова Инна Владимировна, аспирант кафедры заразных болезней, патологической анатомии и судебной ветеринарии ГОУ ЛНР ЛНАУ, 91008, Луганская Народная Республика, г. Луганск, Артемовский район, городок ЛНАУ, 1, *e-mail: gandy_78@mail.ru.*

UDC 619:616.155.394:636.8:616-022

Studies of clinical symptoms of panleukopenia in cats in the Donetsk People's Republic

I. V. Berdyukova[1], P. A. Rudenko[2]

[1] GOU LNR "Luhansk National Agrarian University" (GOU LNR LNAU), Luhansk, Luhansk People's Republic

[2] Branch of the Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia

[1] *e-mail: gandy_78@mail.ru*

[2] *ORCID 0000-0002-0418-9918, e-mail: pavelrudenko76@yandex.ru*

SUMMARY

Feline panleukopenia is a highly contagious viral disease of the members of the family *Felidae* caused by a DNA-virus of the family *Parvoviridae*. After infection, the virus is detected in saliva, nasal discharge, urine and feces; it is transmitted through excrements, water, food, and, according to some reports, by blood-sucking insects. The disease is characterized by gastrointestinal tract, central nervous system, hematopoietic tissue lesions. The paper describes the clinical signs of panleukopenia in cats in the territory of the Donetsk People's Republic. Based on the records of a state-financed veterinary hospital and a charitable animal shelter located in the town of Yasinovataya, as well as those of private veterinary clinics and a veterinary office located in Donetsk, a classification of the clinical signs of the disease in pet and stray cats is suggested with the signs grouped according to their occurrence rate and by age groups. The paper provides evidence of

feline panleukopenia occurrence in the territory of the Donetsk People's Republic. In particular, the period from 2015 to 2018 was characterized by an increase in panleukopenia morbidity in stray animals; pet cats were also involved in the epidemic process. It was found that most of the clinical symptoms of panleukopenia were reported in cats of all age categories irrespective of their sex. Specific symptoms characteristic for different age groups were reported. It was found that panleukopenia morbidity rates for stray kittens aged 0–12 months were 1.8 times higher than those for pet kittens of the same age group. The disease was reported in adult pet cats 2.4 times less frequently than in stray cats. It is shown that the number of the disease cases in female cats is 1.5 times higher than in male ones. It is concluded that the violation of quarantine rules and insufficient vaccination coverage in cats are risk factors for the disease outbreak occurrence precipitating the multiple recurrent outbreaks of the disease.

Key words: panleukopenia, cats, clinical symptoms, morbidity.

For citation: Berdyukova I. V., Rudenko P. A. Studies of clinical symptoms of panleukopenia in cats in the Donetsk People's Republic. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 122–126. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-122-126.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Inna V. Berdyukova, Post-Graduate Student, Department of Contagious Diseases, Pathological Anatomy and Forensic Veterinary Medicine, GOU LNR LNAU, 91008, Luhansk People's Republic, Luhansk, Artemovsky raion, gorodok LNAU, 1, *e-mail: gandy_78@mail.ru.*

ВВЕДЕНИЕ

Панлейкопения кошек продолжает оставаться актуальной проблемой в инфекционной патологии данного вида животных, несмотря на то что относительно эффективно профилактируется при помощи вакцинации [1–5]. Панлейкопения кошек (Feline panleukopenia, FPL) – высококонтагиозное инфекционное заболевание представителей семейства кошачьих, вызываемое ДНК-содержащим вирусом из семейства *Parvoviridae*.

После первого случая регистрации возникновения заболевания прошло лишь несколько десятков лет, результаты исследований, опубликованных по данной теме, показывают, что заболеваемость и смертность при панлейкопении имеют постоянную тенденцию к росту [1, 6–8]. Так, K. Van Brussel et al. [8] описали вспышки панлейкопении кошек, произошедшие в 2014–2018 г. в Австралии, Новой Зеландии и Объединенных Арабских Эмиратах (ОАЭ), где до этого болезнь не регистрировали в течение нескольких десятилетий. Авторы придерживаются точки зрения, что все эти вспышки были вызваны разными вирусами панлейкопении кошек (*Felis parvovirus*, FPV), при этом в Восточной Австралии циркулировали две линии вируса. Вирусы из ОАЭ образовали линию неизвестного происхождения. Новые зарегистрированные случаи заболевания авторы объясняют тем, что вирусы панлейкопении кошек, циркулирующие в популяции диких кошек, могут иногда поражать и домашних любимцев [6, 8, 9].

Найденные и проанализированные авторами примеры позволяют выявить следующую закономерность: нарушение правил карантина и недостаточный охват вакцинацией кошек являются общими факторами во всех очагах заболевания и приводят к многократным повторяющимся вспышкам болезни [6, 8, 10].

Как известно из литературных данных, приюты для животных являются благоприятной средой для возникновения или повторной вспышки заболевания из-за большого количества восприимчивых животных, живущих совместно на ограниченной территории [1, 4]. Необходимо подчеркнуть, что такие факторы, как молодой возраст, иммунологическая несостоятельность или иммуносупрессия, тесный контакт и сопутствующие заболевания (наличие экто- и эндопаразитов), усугубляют течение заболевания [2, 7]. Для практикующих врачей до сих пор актуальными остаются вопросы по распространению, профилактике и лечению панлейкопении [1, 2, 4, 5, 9, 11, 12], а также изучение и детализация клинических признаков, которые максимально точно могут охарактеризовать данную патологию [7, 11, 13–15].

В связи со сказанным выше целью работы явился детальный анализ клинических признаков, встречающихся при заболевании панлейкопенией у домашних и бродячих кошек на территории Донецкой Народной Республики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Достижение поставленной в работе цели осуществляли на основе применения общедоступных методов исследования в рамках изучения источников документальной отчетности ветеринарных клиник и анализа полученных сведений. В работе были использованы следующие материалы ветеринарной отчетности: амбулаторный журнал, журнал регистрации инфекционных заболеваний, карточки животных.

Мониторинговые исследования проводили на базе Ясиноватской городской государственной больницы ветеринарной медицины, благотворительного питомника ОАО «НПО Ясиноватский машиностроительный завод», частного кабинета ветеринарной медицины «Инвет», а также ветеринарных клиник г. Донецка («Багира», «Айболит», «Динго»).

Объектом исследования служили больные кошки, поступившие на амбулаторный прием за период с 2015 по 2018 г.

Результаты полученных исследований обрабатывали статистически и представляли в виде диаграммы и таблиц.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За отчетный период с признаками панлейкопении было зарегистрировано 1216 кошек. Диагноз ставили на основании анамнеза, клинических признаков и подтверждали лабораторными исследованиями крови (общим и биохимическим анализами). Для исследований крови в 60% случаев использовали коммерческие тесты для проведения иммунохроматографического анализа (ИХА).

Зарегистрированные клинические симптомы панлейкопении у кошек проанализировали

Таблица 1
Клинические признаки при заболевании панлейкопенией кошек

Table 1
Clinical signs of panleukopenia in cats

Симптомы	Возрастная группа				
	1–6 мес.	6–12 мес.	1–6 лет	6–12 лет	старше 12 лет
Общие	142	93	72	28	21
%	35,0	38,0	23,7	15,2	27,3
ЖКТ	48	54	37	51	16
%	11,8	22,0	12,2	27,7	20,8
ЦНС	18	3	–	1	8
%	4,4	1,2	0,0	0,5	10,4
Репродуктивная система	–	–	38	17	4
%	0,0	0,0	12,5	9,2	5,2
Смешанные	198	95	157	87	28
%	48,8	38,8	51,6	47,4	36,3
Всего голов (100%)	406	245	304	184	77

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт (gastrointestinal tract);
ЦНС – центральная нервная система (central nervous system).

и сгруппировали по частоте встречаемости в зависимости от возраста животного. Полученные результаты приведены в таблице 1.

Из представленных в таблице 1 данных видно, что вирусом панлейкопении могут быть поражены кошки всех возрастов, но наиболее восприимчивы маленькие котята (возрастная группа 1–6 месяцев), организм которых прекращает сопротивление при снижении уровня колостральных антител до порогового значения, и болезнь у них протекает с ярко выраженными клиническими признаками.

Общие симптомы у этой категории животных представлены следующими признаками: апатия, гипертермия, атаксия, сжатая поза, эксикоз, жажда (но пить отказываются); слизистая ротовой полости сухая, цианотичная; слизистая гортани отечная; кахексия; шерсть тусклая, взъерошенная; кожа сухая, вялая.

Также у большинства котят зарегистрированы смешанные симптомы (48,8%). Со стороны желудочно-кишечного тракта (11,8%) были зафиксированы: рвота (пенистая с примесью желчи и крови), после пальпации живота – боль и рвота, диарея (обильная, водянистая, часто с примесью крови, фибрина, пенистая). При пальпации кишечные петли малоподвижны, утолщены, болезненны (напоминают резиновую трубку), растянуты жидкостью и газами, при аускультации шумы плеска. Другими симптомами, сопровождавшими заболевание, были: ринит, атрофия зрительного нерва, дисплазия сетчатки, судороги, парезы, параличи конечностей и сфинктеров внутренних органов, тремор головы (церебральная гипоплазия), зачастую с летальным исходом, что может подтверждать внутриутробное заражение котят от непривитых против панлейкопении или же имеющих статус вирусоносительства кошек.

У животных в возрасте 6–12 месяцев также регистрировали в основном общие и смешанные симптомы (38,0 и 38,8% соответственно), а симптомы со стороны центральной нервной системы лишь в 3 случаях (1,2%), что может подтверждать факт заражения панлейкопенией самостоятельно, а не внутриутробно. Признаки расстройства центральной нервной системы также можно рассматривать не как самостоятельные, а как симптомы интоксикации.

У беременных самок (возрастная группа 1–12 лет) регистрировались такие симптомы: в первый период беременности – гибель и резорбция эмбрионов, возврат к течке; во второй – аборт или рождение мумифицированных плодов; в третий – пороки развития плода (размножение вируса в лимфоидных тканях, глазах и нервной системе плода, что приводит к возникновению гидроцефалии, глазным аномалиям и прежде всего гипоплазии мозжечка). У котов этой возрастной группы отмечались непродуктивные вязки.

У животных старше 12 лет на фоне общей и смешанной симптоматики панлейкопении часто регистрировались такие симптомы, как влажные хрипы (отек легких), атрофия зрительного нерва. Но последний симптом спорный в силу возрастных изменений организма, а не вследствие перенесенного заболевания. Симптомы со стороны желудочно-кишечного тракта (составляют 20,8%) также требуют дополнительной дифференциальной диагностики в связи с возрастными изменениями организма. Симптомы нарушения репродуктивной функции (составляют 5,2%) чаще выражены самопроизвольными абортами и возвратом к течке.

Регистрируемые клинические симптомы при панлейкопении кошек по возрастным категориям в процентах представлены на рисунке.

Также была проанализирована заболеваемость панлейкопенией по возрастным и половым критериям домашних и бездомных кошек. Результаты приведены в таблице 2.

Согласно данным, представленным в таблице 2, количество случаев заболеваемости панлейкопенией бродячих котят возрастной группы 0–12 месяцев в 1,8 раза больше по сравнению с домашними котятами той же возрастной категории. Случаи заболеваемости взрослых бездомных кошек возрастной категории 1–12 лет регистрировались в 2,4 раза чаще по сравнению с такой же возрастной группой домашних кошек. Обусловлено это тем, что домашние кошки, в отличие от бездомных, находятся под наблюдением, и любые изменения в поведении животного могут подтолкнуть хозяина к обращению к ветеринарному специалисту. Количество заболевших котят в 2,1 раза больше по отношению ко взрослому поголовью, а количество заболевших бродячих животных в 1,9 раза выше, чем домашних кошек. Показатели заболеваемости самок в 1,5 раза выше по отношению к самцам.

В результате проведенного исследования установили, что большинство клинических симптомов панлейкопении регистрируются у всех возрастных категорий кошек и не зависят от половых признаков. Однако обращает на себя внимание, что были зарегистрированы и специфические симптомы, характерные для определенных возрастных категорий. При этом нельзя не отметить, что за период с 2015 по 2018 г. на исследуемой территории произошел рост заболеваемости панлейкопенией бродячих животных с вовлечением в эпизоотический процесс домашних кошек.

Анализ полученных в результате исследования данных позволяет выявить следующие закономерности: рост заболеваемости наблюдается в начале года, что обусловлено брачным периодом у кошачьих; следующий пик – в весенний период, он связан с потерей молодняком колострального иммунитета; еще один – в осенне-зимний период, вызван расселением молодняка, захватом им территорий и связанными с этим конфликтами. Снижение показателей наблюдается в период выращивания выводка, когда подвижность взрослых кошек ограничена, а молодняк еще несамостоятелен.

Подводя промежуточные итоги, можно сказать, что до сих пор остаются актуальными следующие меры: проведение разъяснительной работы по соблюдению ветеринарно-санитарных и зоогигиенических мероприятий; рациональное кормление, правильный уход и содержание кошек как в домашних условиях, так

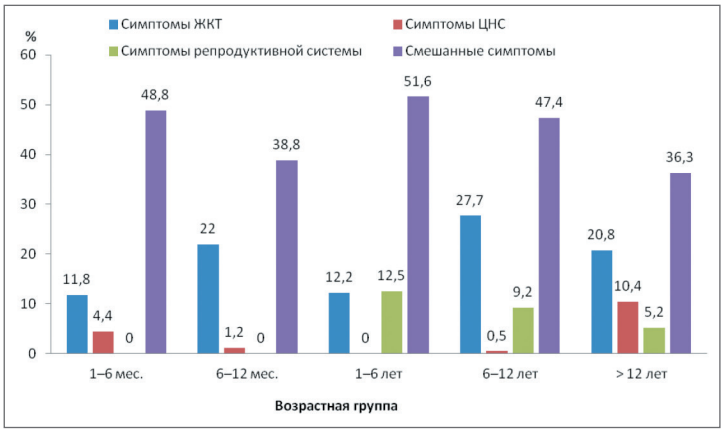


Рис. Регистрируемые симптомы при панлейкопении кошек по возрастным категориям в процентах

Fig. Reported symptoms of feline panleukopenia by age groups, %

и в условиях питомников; обязательное карантинирование всех животных, поступающих в питомники и приюты; проведение обязательной дезинфекции (помещений для животных, инвентаря, снаряжения и предметов ухода), дезинсекции, дератизации. Благотворно влияют на характер эпизоотической ситуации мероприятия по проведению стерилизации и кастрации бездомных и домашних животных.

Перспективы дальнейшего исследования проблемы видим в более детальном изучении и совершенствовании методик диагностики, а также усовершенствовании существующих схем лечения данной патологии. На наш взгляд, снижению заболеваемости как домашних, так и бродячих кошек способствуют системные мероприятия по профилактике заболевания, что напрямую связано с ежегодной вакцинацией всей популяции животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Территория Донецкой Народной Республики является стационарно неблагополучной по панлейкопении кошек. За период с 2015 по 2018 г. ситуация характеризовалась ростом заболеваемости бродячих животных с вовлечением в эпизоотический процесс домашних кошек. При этом большинство клинических симптомов панлейкопении регистрируются у всех

Таблица 2
Характеристика заболеваемости кошек панлейкопенией по возрастным и половым признакам

Table 2
Panleukopenia morbidity rates in cats by age and gender

Исследуемый признак	Кошки бродячие		Кошки домашние		Общее число случаев
	голов	%	голов	%	голов
Котята 0–12 месяцев	526	64,3	292	35,7	818
Взрослые кошки 1–12 лет	282	70,9	116	29,1	398
в т. ч. – самки	144	60,5	94	39,5	238
– самцы	51	31,9	109	68,1	160
Всего	808	–	408	–	1216

возрастных категорий кошачьих вне зависимости от половых признаков. Отмечены и специфические симптомы, характерные для разных возрастных категорий.

Показатели заболеваемости панлейкопенией бродячих котят возрастной группы 0–12 месяцев в 1,8 раза выше по отношению к домашним котятам той же возрастной категории. У взрослых домашних кошек заболевание регистрировалось в 2,4 раза реже по сравнению с бездомными кошками. Частота заболеваемости самок по отношению к самцам в 1,5 раза выше.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 6–9, 11–15 см. REFERENCES)

1. Акматова Э. К., Камарли А. А., Омоева Т. Б. Эпизоотическая ситуация по панлейкопении кошек на основе данных ветеринарных клиник. *Вестник Кыргызского НАУ им. К. И. Скрябина*. 2018; 2 (47): 248–251. eLIBRARY ID: 34908251.

2. Бирюкова Т. А., Колышкин В. М., Уласов В. И., Сулимов А. А. Культуральные свойства вируса панлейкопении кошек. *Ветеринария*. 2000; 10: 22–25.

3. Ермаков В. В., Курлыкова Ю. А. Бактериальная микрофлора при панлейкопении у кошек. *Наука в современном мире: теория и практика: материалы V Международной научно-практической конференции*. Под ред. О. Б. Нигматуллина. Уфа: Исследовательский центр информационно-правовых технологий; 2017; 6–10. eLIBRARY ID: 32595026.

4. Куприянчук В. В., Домницкий И. Ю., Демкин Г. П. Влияние панлейкопении кошек на патологические процессы в органах зрения и их микроморфометрические характеристики. *Актуальные вопросы патологии, морфологии и терапии животных: материалы 19-й Международной научно-методической конференции по патологической анатомии животных*. Ставрополь: Аргус; 2018; 27–33. eLIBRARY ID: 32650172.

5. Соколовская С. А., Орлова И. В. Панлейкопения кошек. *Достижения современной науки: от теории к практике: материалы Международной (заочной) научно-практической конференции*. Под ред. А. И. Вострецова. Нефтекамск: Мир науки; 2017; 93–96. eLIBRARY ID: 30664369.

10. Руденко А. Ф., Руденко П. А., Руденко А. А., и др. Эффективность профилактики вирозов у собак в условиях г. Луганска. *Збірник наукових праць ЛНАУ*. 2008; 84: 104–106.

REFERENCES

1. Akmatova E. K., Kamarli A. A., Omoeva T. B. Epizootic situation on panleukopenia of cats based on details of veterinary clinics. *Vestnik Kyrgyzskogo NAU im. K. I. Skryabina*. 2018; 2 (47): 248–251. eLIBRARY ID: 34908251. (in Russian)

2. Biryukova T. A., Kolyshkin V. M., Ulasov V. I., Sulimov A. A. Cultural properties of feline panleukopenia virus [Kul'tural'nye svojstva virusa panlejkopenii koshek]. *Veterinariya*. 2000; 10: 22–25. (in Russian)

3. Yermakov V. V., Kurlykova Yu. A. Bacterial microflora associated with panleukopenia in cats [Bakterial'naya mikroflora pri panlejkopenii u koshek]. *Science in the Contemporary World: Theory and Practice* [*Nauka v sovremennom mire: teoriya i praktika*]: *Proceedings of the V International Research-to-Practice Conference*. Ed. by O. B. Nigmatullin. Ufa: Information and Legal Technology Research Centre; 2017; 6–10. eLIBRARY ID: 32595026. (in Russian)

4. Kupriyanchuk V. V., Domnitsky I. Yu., Demkin G. P. The effect of panleukopenia on pathological processes in the organs of vision and their micromorphometric characteristics [Vliyanie panlejkopenii koshek na patologicheskie processy v organah zreniya i ih mikromorfometricheskie harakteristiki]. *Topical Issues of Animal Pathology, Morphology and Therapy* [*Aktual'nye voprosy patologii, morfologii i terapii zhivotnyh*]*: Proceedings of the 19th International Scientific and Methodical Conference on Pathological Anatomy of Animals*. Stavropol: Argus; 2018; 27–33. eLIBRARY ID: 32650172. (in Russian)

5. Sokolovskaya S. A., Orlova I. V. Feline panleukopenia [Panlejkopeniya koshek]. *Advances of Modern Science: from Theory to Practice* [*Dostizheniya sovremennoj nauki: ot teorii k praktike*]: *Proceedings of the International (Virtual) Research-to-Practice Conference*. Ed. By A. I. Vostretsov. Neftekamsk: Mir nauki; 2017; 93–96. eLIBRARY ID: 30664369. (in Russian)

6. Kelman M., Ward M. P., Barrs V. R., Norris J. The geographic distribution and financial impact of canine parvovirus in Australia. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019; 66 (1): 299–311; DOI: 10.1111/tbed.13022.

7. Miranda C., Parrish C. R., Thompson G. Canine parvovirus 2c infection in a cat with severe clinical disease. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2014; 26 (3): 462–464; DOI: 10.1177/1040638714528502.

8. Van Brussel K., Carrai M., Lin C., Kelman M., Setyo L., Aberdein D., et al. Distinct lineages of feline parvovirus associated with epizootic outbreaks in Australia, New Zealand and the United Arab Emirates. *Viruses*. 2019; 11 (12): 1155; DOI: 10.3390/v11121155.

9. Cotmore S. F., Agbandje-McKenna M., Chiorini J. A., Mukha D. V., Pintel D. J., Qiu J., et al. The family *Parvoviridae*. *Arch. Virol.* 2014; 159 (5): 1239–1247; DOI: 10.1007/s00705-013-1914-1.

10. Rudenko A. F., Rudenko P. A., Rudenko A. A., et al. Effectiveness of virosis prevention in dogs in Luhansk setting [Effektivnost' profilaktiki virozov u sobak v usloviyah g. Luganska]. *Збірник наукових праць ЛНАУ*. 2008; 84: 104–106. (in Russian)

11. Barrs V. R. Feline Panleukopenia: A Re-emergent Disease. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* 2019; 49 (4): 651–670; DOI: 10.1016/j.cvsm.2019.02.006.

12. Ward M. P., Kelman M. Companion animal disease surveillance: A new solution to an old problem? *Spat. Spatiotemporal. Epidemiol.* 2011; 2 (3): 147–157; DOI: 10.1016/j.sste.2011.07.009.

13. Paul A., Stayt J. The intestinal microbiome in dogs and cats with diarrhoea as detected by a faecal polymerase chain reaction-based panel in Perth, Western Australia. *Aust. Vet. J.* 2019; 97 (10): 418–421; DOI: 10.1111/avj.12867.

14. Awad R. A., Khalil W. K. B., Attallah A. G. Feline panleukopenia viral infection in cats: Application of some molecular methods used for its diagnosis. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 2018; 16 (2): 491–497; DOI: 10.1016/j.jgeb.2018.08.001.

15. Bergmann M., Schwertler S., Speck S., Truyen U., Hartmann K. Antibody response to feline panleukopenia virus vaccination in cats with asymptomatic retrovirus infections: A pilot study. *J. Feline Med. Surg.* 2019; 21 (12): 1094–1101; DOI: 10.1177/1098612X18816463.

Поступила 26.03.2020
Принята в печать 30.04.2020

Received on 26.03.2020
Approved for publication on 30.04.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бердюкова Инна Владимировна, аспирант кафедры заразных болезней, патологической анатомии и судебной ветеринарии, ГОУ ЛНР «Луганский национальный аграрный университет», г. Луганск, Луганская Народная Республика.

Руденко Павел Анатольевич, доктор ветеринарных наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории биологических испытаний, Филиал ФГБУ «Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова» Российской академии наук, г. Пущино, Россия.

Inna V. Berdyukova, Post-Graduate Student, Department of Contagious Diseases, Pathological Anatomy and Forensic Veterinary Medicine, GOU LNR Luhansk National Agrarian University, Luhansk, Luhansk People's Republic.

Pavel A. Rudenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Senior Researcher, Laboratory of Biological Testing, Branch of the Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russia.

УДК 619:616.98:579.862.1:599.824
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-127-131

Agr-типирование метициллин-чувствительных *Staphylococcus aureus* (MSSA), выделенных у низших приматов

В. А. Калашникова
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (ФГБНУ «НИИ МП»), г. Сочи, Россия
ORCID 0000-0002-1574-8674, e-mail: vikky.aw@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) – микроорганизм, вызывающий большое количество заболеваний у человека и животных, включая сепсис, пневмонии, пищевые токсикоинфекции, нагноение ран и другие. По генотипированию штаммов *S. aureus*, выделенных у людей, из пищевых продуктов и при маститах у крупного и мелкого рогатого скота, проведено много исследований. Отсутствие данных по типированию метициллин-чувствительных *S. aureus*, обнаруженных у обезьян, побудило провести аналогичное исследование, поскольку инфекции стафилококковой природы у приматов широко распространены. Настоящая работа посвящена молекулярно-генетическому исследованию *S. aureus*, изолированных из разных биологических образцов от обезьян, на основе типирования полиморфного локуса *agr*, являющегося регулятором экспрессии генов патогенности. В результате исследования методом полимеразной цепной реакции 301 изолята *S. aureus* установлено, что большинство *S. aureus* относилось к группе *agr* IV (55%), на втором месте по распространенности оказался *agr* I (34%). Полученные в ходе исследования данные отличаются от опубликованных в литературных источниках результатов других исследователей, которые проводили типирование стафилококков, выделенных от людей, у которых превалирует *agr* I. При проведении работы не выявлено четкой корреляции между источником выделения микроба и группами комплекса *agr*, а также не отмечена связь между заболеваниями и принадлежностью *S. aureus* к определенной группе. Соотношения распространенности каждой группы *agr* примерно одинаковы у *S. aureus*, изолированных у макаков-резусов и макаков яванских, но у павианов гамадрилов и мартышек зеленых II и III группы комплекса *agr* не обнаружены.

Ключевые слова: обезьяны, *Staphylococcus aureus*, комплекс *agr*, группы и аллели *agr*.

Благодарность: Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования научно-исследовательских работ по теме «Этиологическая структура паразитарно-бактериальных ассоциаций при кишечной патологии обезьян», раздел «Молекулярно-генетическая характеристика *S. aureus*, выделенных у обезьян» (рег. № АААА-А17-117041910068-0).

Для цитирования: Калашникова В. А. *Agr*-типирование метициллин-чувствительных *Staphylococcus aureus* (MSSA), выделенных у низших приматов. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 127–131. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-127-131.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Калашникова Виктория Алексеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБНУ «НИИ МП», 354376, Россия, Краснодарский край, г. Сочи, Адлерский р-н, с. Веселое, ул. Мира, 177, *e-mail: vikky.aw@gmail.com*.

UDC 619:616.98:579.862.1:599.824

Agr-typing of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) isolated from non-human primates

V. A. Kalashnikova
Federal State Budgetary Scientific Institution "Scientific Research Institute of Medical Primatology" (FSBSI "RIMP"), Sochi, Russia
ORCID 0000-0002-1574-8674, e-mail: vikky.aw@gmail.com

SUMMARY

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) is a microorganism that causes a great number of diseases in humans and animals, including sepsis, pneumonia, food toxicoinfections, wound abscess, etc. Numerous studies on genotyping *S. aureus* strains isolated from humans, food and mastitis in cattle and small ruminants have been carried out. The lack of information on the genotyping of methicillin-susceptible *S. aureus* detected in monkeys served as a stimulus to conduct a similar research, since staphylococcal infections in the primates are widespread. The present study is devoted to molecular genetic testing of *S. aureus* isolated from different biological samples taken from monkeys and is based on typing of *agr* polymorphic locus which acts as a regulator of pathogenic gene expression. As a result of PCR analysis of 301 *S. aureus* isolates it was established that most of *S. aureus* belonged to *agr* IV (55%), and *agr* I (34%) was the second most group. Data resulting from the study differ from the results of other researchers published in literary sources, who performed typing of *Staphylococcus* isolated from people with *agr* I prevailing.

In conducting the study, neither distinct correlation between microbial isolation source and *agr* complex groups, nor relationship between the diseases and *S. aureus* group specificity were detected. Prevalence ratio of each *agr* group is nearly similar in *S. aureus* isolated from rhesus macaques and crab-eating macaques. But in hamadryas baboons and green monkeys II and III groups of *agr* complex were not detected.

Key words: monkeys, *Staphylococcus aureus*, *agr* complex, *agr* groups and alleles.

Acknowledgement: The work was performed under the government funding of research "Etiologic structure of parasite and bacteria associations during intestinal pathology in primates", section "Molecular and genetic properties of *S. aureus*, isolated from primates" (Reg. No. AAAA-A17-117041910068-0).

For citation: Kalashnikova V. A. *Agr*-typing of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) isolated in non-human primates. *Veterinary Science Today.* 2020; 2 (33): 127–131. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-127-131.

Conflict of interest. The author declares no conflict of interest.

For correspondence: Viktoria A. Kalashnikova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, FSBSI "RIMP", 354376, Russia, Krasnodar krai, Sochi, Adler district, Vesyoloe, Mira str., 177, *e-mail: vikky.aw@gmail.com*.

ВВЕДЕНИЕ

Инфекции, вызванные золотистым стафилококком (*Staphylococcus aureus*), имеют большое значение для ветеринарии и медицины. Хотя *S. aureus* является в первую очередь комменсальным микробом, он способен вызывать у людей и животных широкий спектр заболеваний, которые могут значительно варьировать по степени тяжести (кожные инфекции, менингит, эндокардит, остеомиелит, бактериемия, синдром токсического шока, пищевое отравление, маститы, абсцессы, пневмонии и др.). Как зоонозный патоген, он ответственен за инфекционные заболевания, характеризующиеся септицемией и сепсисом [1]. Чтобы выжить и адаптироваться к различным экологическим нишам, *S. aureus* развил сложную регуляторную сеть для контроля производства факторов вирулентности. Одной из основных функций этой взаимосвязанной сети является восприятие различных сигналов окружающей среды и реагирование путем изменения продукции необходимых для выживания в организме хозяина факторов вирулентности, включая адгезины клеточной поверхности, внеклеточные ферменты и токсины. Наиболее изученной является система вспомогательного генного регулятора (*agr* – accessory gene regulator), представляющая собой кластер генов, который регулирует экспрессию различных генов домашнего хозяйства, многих факторов вирулентности и адгезивных белков, распознающих макромолекулы клеток хозяина, также она участвует в реакции кворум-сенсинга (quorum sensing). Локус *agr* характеризуется полиморфизмом его аутоиндуцирующего пептида (AIP). По вариабельным участкам выделяют четыре основные группы *agr* (I, II, III, IV), на которых основано *agr*-типирование [2–4]. Молекулярно-генетическими исследованиями установлено распространение групп *agr* в различных географических зонах, в то же время выявление преобладающих групп в каждом регионе может быть различным [3].

В литературе имеется мало сведений по исследованию *S. aureus*, выделенных у животных. S. Monecke et al. приводят данные по изучению *S. aureus* у диких и экзотических видов животных, содержащихся в условиях неволи [5]. В ряде случаев молекулярное типирование подтвердило, что штаммы человеческого происхождения передавались этим животным. Много работ посвящено генетическим особенностям *S. aureus*, выделенных при маститах у копытных [6–11]. Молекулярно-генетическое исследование *S. aureus*, изолированных от обезьян, проводится в Адлерском питомнике сравнительно недавно [12–14]. Работ по *agr*-типированию *S. aureus*, выделенных от обезьян, за рубежом не проводилось. Поэтому, учитывая важную роль *agr*-генов, целью настоящего исследования было выявление и идентификация *agr*-групп изолятов *S. aureus*, выделенных из различных биологических образцов от обезьян.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выделение и идентификация бактериальных изолятов. В работу включен 301 изолят *S. aureus*, выделенный от различных видов обезьян, содержащихся в Адлерском питомнике. *S. aureus* выделены из фекалий ($n = 62$) и слизистой носа ($n = 32$) живых и различных органов погибших животных: легких ($n = 101$), печени ($n = 36$), селезенки ($n = 26$), почки ($n = 17$), лимфоузлов ($n = 27$). Легкие для исследования брали у погибших обезьян с диагнозом «пневмония», другие органы – при кишечных заболеваниях.

Для выделения стафилококков проводились бактериологическое и биохимическое исследование стандартными методами, как описано ранее [13, 14]. Идентификацию осуществляли на основании морфологических, тинкториальных и биохимических свойств. Видовую идентификацию проводили с помощью коммерческих тест-систем «Мультимикротесты для биохимической идентификации стафилококков (ММТ С)» (ООО НПО «Иммунотэкс», Россия).

Экстракция ДНК из штаммов S. aureus. Выделение тотальной ДНК стафилококков осуществляли из бактериальных суспензий, приготовленных из суточных агаровых культур *S. aureus* и суспендированных в 100 мкл раствора хлорида натрия с использованием набора реактивов «ДНК-сорб-В» (ООО «ИЛС», Россия) согласно рекомендации производителя.

ПЦР-детекция гена tecA S. aureus. Постановку полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией осуществляли с использованием коммерческой тест-системы «АмплиСенс MRSA-скрин-титр-FL» (ООО «ИЛС», Россия) на флуоресцентном детектирующем термоциклере

Таблица 1
Гены локуса *agr* и праймеры, использованные в исследовании

Table 1
***Agr* locus genes and primers used in the analysis**

Ген/локус	Последовательность 5′–3′	Шкала, мкмоль	Ампликон, п. н.
agr loci (*agrB*)	F: ATGCACATGGTGCACATGC	0,6	
agr I	R: GTCACAAGTACTATAAGCTGCGAT	0,4	441
agr II	R: TAT TAC TAA TTG AAA AGT GGC CAT AGC	0,4	575
agr III	R: GTAATGTAATAGCTTGTATAATAATACCCAG	0,4	323
agr IV	R: CGATAATGCCGTAATACCCG	0,4	659

Rotor-Gene (США) согласно прилагаемой инструкции производителя.

Детекция аллелей комплекса agr и типирование. *Agr*-типирование специфических групп осуществлялось с использованием праймеров, описанных в научных публикациях [4], (табл. 1) и синтезированных в ЗАО «Евроген» (Россия).

Для мультиплексной ПЦР использовали готовые амплификационные смеси ScreenMix-HS (ЗАО «Евроген») в конечном объеме 25 мкл на реакцию. Амплификацию проводили в термоциклере «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия) по следующей программе: предварительная денатурация при 95 °С – 5 мин, денатурация 95 °С – 10 с, отжиг 50 °С – 10 с, пролонгация 72 °С – 20 с (32 цикла) и финальная элонгация при 72 °С – 5 мин.

Гель-электрофорез. Визуализацию продуктов амплификации осуществляли с помощью гель-электрофореза в 1,2%-м агарозном геле, окрашенном раствором бромистого этидия, в градиенте напряжения 90 В. Размер ампликонов определяли, используя ДНК-роллер, 100–1200 н. п. (ЗАО «Евроген», Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью фенотипических и биохимических тестов был идентифицирован 301 изолят *S. aureus*. Все культуры давали гемолиз, лецитиназу, ферментировали маннит в анаэробных условиях, свертывали плазму крови кролика. Полученные результаты на 100% совпали с результатами ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией, которая подтвердила вид стафилококка и показала отсутствие в геноме изучаемых изолятов гена *mecA*, т. е. все культуры были метициллин-чувствительные.

В результате проведенного *agr*-типирования большинство MSSA были отнесены к IV группе *agr* (55%). Второй по распространенности была *agr* I (34%). Частота детекции остальных групп была намного ниже (табл. 2).

Как видно из таблицы 2, аллель IV комплекса *agr* доминировала почти у всех изолятов MSSA, выделенных из органов погибших обезьян, а также из фекальных и назальных культур. Частота ее детекции варьировала от 41% у *S. aureus*, изолированных из почек, до 61% – у *S. aureus*, выделенных из лимфоузлов. Однако из 27 изолятов *S. aureus*, обнаруженных в лимфоузлах, ни в одном случае не выявлена аллель III.

Agr IV группы также была основной у MSSA, изолированных от обезьян рода макак (макаки-резусы, макаки яванские) и павианов гамадрилов (табл. 3). У *S. aureus*, выделенных от павианов гамадрилов и мартышек зеленых, II и III группы комплекса *agr* обнаружены не были.

Как известно, *S. aureus* является комменсалом микробиоты млекопитающих, но при этом экспрессирует

Таблица 2
Принадлежность изолятов *S. aureus* к *agr*-группам в зависимости от источника выделения

Table 2
***S. aureus* isolates belonging to *agr* groups according to the isolation source**

Источник изоляции	Количество изолятов по *agr*-группам, *n* (%)				Всего
	agr I	*agr* II	*agr* III	*agr* IV	
Легкое	35 (35%)	5 (5%)	3 (3%)	58 (57%)	101
Печень	12 (33%)	3 (8%)	2 (6%)	19 (53%)	36
Селезенка	8 (31%)	1 (4%)	2 (8%)	15 (57%)	26
Почка	8 (47%)	1 (6%)	1 (6%)	7 (41%)	17
Лимфоузел	11 (35%)	2 (4%)	–	14 (61%)	27
Мазок из носа	13 (41%)	2 (6%)	1 (3%)	16 (50%)	32
Фекалии	16 (26%)	8 (13%)	3 (5%)	35 (56%)	62
Всего	103 (34%)	22 (7%)	12 (4%)	164 (55%)	301

Таблица 3
Распространение *agr*-групп у изолятов *S. aureus*, полученных от различных видов обезьян

Table 3
***Agr* group distribution in *S. aureus* isolates obtained from different monkey species**

Виды обезьян	Количество изолятов по *agr*-группам				Всего
	agr I	*agr* II	*agr* III	*agr* IV	
Макак-резус	39	7	3	64	113
Макак яванский	32	11	7	55	105
Макак лапундер	3	2	1	4	10
Мартышка зеленая	4	–	–	5	9
Павиан анубис	5	1	1	8	15
Павиан гамадрил	15	–	–	25	40
Макак бурый	2	1	–	–	3
Капуцин	1	–	–	2	3
Патас	2	–	–	1	3
Всего	103	22	12	164	301

различные факторы патогенности, становясь причиной многих госпитальных и внебольничных инфекций. Секреция многих поверхностных клеточных протеинов, токсинов и адгезинов регулируется локусом *agr*. Впервые метод классификации *S. aureus* на основе *agr*-типирования применили P. Dufour et al. [2], которые разделили изоляты этого микроба на 4 группы. Это деление идет на основе гена *agrC*, кодирующего рецептор аутоиндуцирующего пептида и гена *agrD*, кодирующего аутоиндуцирующий пептид [2, 4]. Четыре аллельные группы системы *agr*, связанные с генетическим фоном и наличием факторов патогенности, охарактеризованы у штаммов *S. aureus*, полученных от людей [15]. Однако относительное распределение групп *agr* в изолятах *S. aureus*, выделенных от обезьян, до сих пор неизвестно.

Многочисленными исследованиями установлено, что разные *agr*-группы могут быть ассоциированы с определенными факторами вирулентности и заболеваниями, вызываемыми *S. aureus* [1, 15, 16]. Установлено, что выделенные от людей изоляты *S. aureus*, принадлежащие к *agr* I, представляют собой группу, состоящую из внутри- и внебольничных изолятов, редких спорадических штаммов; *agr* II и *agr* III групп являются преимущественно внутрибольничными эпидемиологическими клонами; *agr* IV – редкая группа, имеющая сходство с *agr* I [17]. Стафилококки группы *agr* III ассоциированы с инвазивными заболеваниями, в частности с бактериемией [3]. *S. aureus*, содержащие *agr* I группы, обладают способностью проникать в эпителиальные клетки и вызывать маститы у коров и овец [9].

В исследованиях зарубежных и отечественных ученых показано, что у *S. aureus*, изолированных от людей в разных географических регионах, превалирует аллель I [4, 5, 16]. В ряде работ по изучению *S. aureus*, выделенных при маститах у коров, доминирующими также были *agr* I [3, 5, 7, 11], в других же исследованиях первое место отводилось *agr* II и *agr* III [8]. Группа *agr* IV при маститах у крупного и мелкого рогатого скота встречалась крайне редко или не встречалась вообще [5, 7, 8, 11]. В исследованиях L. M. De Almeida et al. [9] в молоке овец и при маститах у овец у *S. aureus* были обнаружены аллели I и II . Данные по распределению *agr*-групп у *S. aureus*, выделенных на свинофермах, также были разнообразны. Так, одни авторы [18] сообщают об обнаружении в этих случаях у *S. aureus* только *agr* I, другие – только *agr* IV группы [1]. Возможно, распространение тех или иных аллелей комплекса генного регулятора у *S. aureus*, изолированных от животных, связано с географическим регионом, так же как и у людей.

В данной работе большинство изолятов MSSA, выделенных от обезьян, были отнесены к группе *agr* IV (55%), на втором месте по распространенности стоит *agr* I (34%). Детекция аллелей *agr* II составила 7%, *agr* III обнаружена у 4% изученных изолятов. У стафилококков, выделенных при пневмониях из легких обезьян, и у стафилококков, выделенных из органов при кишечных инфекциях, доминировала *agr* IV. В результате проведенного исследования установлено, что изоляты, колонизирующие слизистую оболочку носа обезьян и выделенные из почек, имеют принадлежность практически в равной степени к *agr* I и *agr* IV. У *S. aureus*, обнаруженных в других органах и фекальных образцах, приблизительно на 20–30% чаще встречается IV аллель исследуемого комплекса. В работе также отмечено, что соотношения распространенности каждой группы *agr S. aureus* примерно одинаковы, если рассматривать конкретно макак-резусов и макак яванских. Но из всех обследованных павианов гамадрилов и мартышек зеленых ни у одного животного аллели II и III обнаружены не были. Полученные в ходе работы данные отличаются от данных по распространению аллелей комплекса *agr* у штаммов *S. aureus*, выделенных от людей, где превалируют *S. aureus agr* I [2, 3, 4, 15].

Проведенное исследование предполагает дальнейшее молекулярно-генетическое изучение с проведе-

нием *spa*- и *coa*-типирования изолятов, чтобы понять эпидемиологию *S. aureus* среди обезьян питомника и сравнить полученные результаты с молекулярной характеристикой эпидемиологических клонов, выделенных от людей.

ВЫВОДЫ

1. У изолятов *S. aureus*, выделенных от обезьян, доминировала группа *agr* IV.

2. Не установлена связь между источником выделения микроба и принадлежностью *S. aureus* к определенной группе *agr*.

3. У изолятов *S. aureus*, полученных от павианов гамадрилов и мартышек зеленых, не были детектированы аллели II и III комплекса *agr*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (пп. 1–11, 15, 16, 18 см. REFERENCES)

12. Калашникова В. А., Дмитренко О. А., Стасилевич З. К., Джикидзе Э. К. Молекулярно-генетическое типирование *Staphylococci aureus*, выделенных от обезьян. *Вестник ветеринарии*. 2012; 1 (60): 73–77. eLIBRARY ID: 20888807.

13. Калашникова В. А., Султанова О. А. Место *Staphylococcus aureus* в этиологической структуре возбудителей пневмоний у обезьян, содержащихся в адлерском питомнике. *Астраханский медицинский журнал*. 2017; 17 (2): 36–43. eLIBRARY ID: 29922139.

14. Калашникова В. А. Молекулярное типирование метициллинчувствительных *Staphylococcus aureus* (MSSA), изолированных от обезьян, на основе полиморфизма коагулазного гена. *Ветеринария сегодня*. 2019; 3: 57–62. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-57-62.

17. Гостев В. В., Гончаров А. Е., Грачева М. А., Сидоренко С. В. Распространение генов комплекса Immune Evasion Cluster и других факторов вирулентности у *Staphylococcus aureus*. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2013; 15 (4): 270–278. eLIBRARY ID: 20879495.

REFERENCES

1. Zhang Y., Xu D., Shi L., Cai R., Li C., Yan H. Association between *agr* type, virulence factors, biofilm formation and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from pork production. *Front. Microbiol*. 2018; 9: 1876. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01876.

2. Dufour P., Jarraud S., Vandenesch F., Greenland T., Novick R. P., Bes M., et al. High genetic variability of the *agr* locus in *Staphylococcus* species. *J. Bacteriol*. 2002; 184 (4): 1180–1186. DOI: 10.1128/jb.184.4.1180-1186.2002.

3. Javdan S., Narimani T., Shahini Shams Abadi M., Gholipour A. *Agr* typing of *Staphylococcus aureus* species isolated from clinical samples in training hospitals of Isfahan and Shahrekord. *BMC Res. Notes.* 2019; 12:363. DOI: 10.1186/s13104-019-4396-8.

4. Shopsin B., Mathema B., Alcabes P., Said-Salim B., Lina G., Matsuka A., et al. Prevalence of *agr* specificity groups among *Staphylococcus aureus* strains colonizing children and their guardians. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41 (1): 456–459. DOI: 10.1128/jcm.41.1.456-459.2003.

5. Monecke S., Gavier-Widén D., Hotzel H., Peters M., Guenther S, Lazaris A., et al. Diversity of *Staphylococcus aureus* isolates in European wildlife. *PloS One*. 2016; 11 (12):e0168433. DOI: 10.1371/journal.pone.0168433.

6. Gilot P., Lina G., Cochard T., Poutrel B. Analysis of the genetic variability of genes encoding the RNA III-activating components *agr* and TRAP in a population of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows with mastitis. *J. Clin. Microbiol*. 2002; 40 (11): 4060–4067. DOI: 10.1128/JCM.40.11.4060-4067.2002.

7. Alves P. D., McCulloch J. A., Even S., Le Maréchal C., Thierry A., Grosset N., et al. Molecular characterisation of *Staphylococcus aureus* strains isolated from small and large ruminants reveals a host rather than tissue specificity. *Vet. Microbiol*. 2009; 137 (1–2): 190–195. DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.12.014.

8. Vautor E., Magnone V., Rios G., Le Brigand K., Bergonier D., Lina G., et al. Genetic differences among *Staphylococcus aureus* isolates from dairy ruminant species: a single-dye DNA microarray approach. *Vet. Microbiol*. 2009; 133 (1–2): 105–114. DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.06.006.

9. De Almeida L. M., De Almeida M. Z., De Mendonça C. L., Mamizuka E. M. Comparative analysis of *agr* groups and virulence genes among subclinical and clinical mastitis *Staphylococcus aureus* isolates from sheep flocks of the Northeast of Brazil. *Braz. J. Microbiol*. 2013; 44 (2): 493–498. DOI: 10.1590/S1517-83822013000200026.

10. Bardiau M., Caplin J., Detilleux J., Graber H., Moroni P., Taminiau B., Mainil J. G. Existence of two groups of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis based on biofilm formation, intracellular survival, capsular profile and *agr*-typing. *Vet. Microbiol*. 2016; 185: 1–6. DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.01.003.

11. Khoramrooz S. S., Mansouri F., Marashifard M., Malek Hosseini S. A. A., Akbarian Chenarestane-Olia F., Ganavehei B., et al. Detection of biofilm related genes, classical enterotoxin genes and *agr* typing among *Staphylococcus aureus* isolated from bovine with subclinical mastitis in southwest of Iran. *Microb. Pathog*. 2016; 97: 45–51. DOI: 10.1016/j.micpath.2016.05.022.

12. Kalashnikova V. A., Dmitrenko O. A., Stasilevich Z. K., Dzhikidze E. K. Molecular-genetic typing of *Staphylococci aureus* isolated from monkeys. *Vestnik veterinarii*. 2012; 1 (60): 73–77. eLIBRARY ID: 20888807. (in Russian)

13. Kalashnikova V. A., Sultanova O. A. Place of *Staphylococcus aureus* in etiological structure of pneumonia pathogens in monkeys kept in Adler monkey farm. *Astrakhan Medical Journal*. 2017; 17 (2): 36–43. eLIBRARY ID: 29922139. (in Russian)

14. Kalashnikova V. A. Molecular typing of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), isolated from monkeys, based on coagulase gene polymorphism. *Veterinary Science Today.* 2019; 3: 57–62. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-57-62.

15. Jarraud S., Mougel C., Thioulouse J., Lina G., Meugnier H., Forey F., et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, *agr* groups (alleles), and human disease. *Infect. Immun*. 2002; 70 (2): 631–641. DOI: 10.1128/IAI.70.2.631-641.2002.

16. Kolawole D. O., Adeyanju A., Schaumburg F., Akinyoola A. L., Lawal O. O., Amusa Y. B., et al. Characterization of colonizing *Staphylococcus aureus* isolated from surgical wards' patients in a Nigerian University Hospital. *PloS One*. 2013; 8 (7):e68721. DOI: 10.1371/journal.pone.0068721.

17. Gostev V. V., Goncharov A. E., Grachyova M. A., Sidorenko S. V. Distribution of Immune Evasion Cluster Genes and genes encoding other virulence factors among *Staphylococcus aureus. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2013; 15 (4): 270–278. eLIBRARY ID: 20879495. (in Russian)

18. Moreno-Flores A., Potel-Alvarellos C., Francisco-Tomé M., Constenla-Caramés L., Pérez-Roth E., López-Cotón C., et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in swine housed indoors in Galicia, Spain. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 2020; 38 (1): 16 –20. DOI: 10.1016/j.eimc.2019.03.009.

Поступила 27.03.2020
Принята в печать 15.05.2020
Received on 27.03.2020
Approved for publication on 15.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Калашникова Виктория Алексеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Россия.

Victoria A. Kalashnikova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, FSBSI "RIMP", Sochi, Russia.

УДК 619:576.807.9
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-132-138

Исследование биопленок и фенотипических признаков грибов рода *Candida*

Е. М. Ленченко[1], Н. П. Сачивкина[2]

[1] ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств» (ФГБОУ ВО «МГУПП»), Москва, Россия

[2] ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), г. Москва, Россия

[1] *ORCID 0000-0003-2576-2020, e-mail: lenchenko-ekaterina@yandex.ru*

[2] *ORCID 0000-0003-1100-929X, e-mail: sachivkina@yandex.ru*

РЕЗЮМЕ

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* – возбудители инфекционной патологии слизистой оболочки желудочно-кишечного, дыхательного, урогенитального трактов и кожи млекопитающих, сепсиса и диссеминированной инфекции птиц. Для разработки и совершенствования диагностических и противоэпизоотических мероприятий актуальность представляют изыскание и апробация многоуровневых алгоритмов индикации биопленок при воздействии химиотерапевтических и дезинфицирующих препаратов для блокировки синтеза или разрушения межклеточного матрикса при развитии поверхностных, глубоких и системных кандидозов животных. Установлено, что формирование гетерогенной структуры биопленок представляет собой множество этапов, реализующих процессы межклеточной коммуникации за счет синтеза полимерного матрикса. При оптической микроскопии выявлялась трехмерная структура биопленок в виде плотной сети, состоящей из дрожжевых клеток, гифальных и псевдогифальных форм, окруженных межклеточным полимерным матриксом. При инфицировании восприимчивых видов этиологическая значимость факторов патогенности *Candida* spp. реализуется за счет адгезии, инвазии, секреции гидролаз, диморфизма. Формирование моновидовых или поливидовых биопленок микроорганизмов, в том числе и *Candida* spp., обусловливают развитие поверхностных, глубоких и системных кандидозов. Индикация в большом количестве дрожжевой и мицеллярной фаз у изолятов *C. albicans* и *C. africana* являлась дифференциальным признаком значительной степени колонизации слизистых оболочек гортани, глотки и миндалин при локальных и системных патологиях свиней. Результаты исследований гетерогенной структуры биопленок и фенотипических признаков дрожжеподобных грибов могут быть использованы при сравнительном изучении биологических свойств и выявлении общих закономерностей и дифференциальных признаков микроорганизмов, оптимизации схемы микологической диагностики, а также при разработке антимикотических препаратов.

Ключевые слова: микроскопические грибы, *Candida* spp., биопленки, оптическая плотность, микроскопия, фенотипические признаки.

Благодарность: Авторы благодарят Московский государственный университет пищевых производств (МГУПП) и Российский университет дружбы народов (РУДН) за предоставленные возможности для проведения исследовательской работы.

Для цитирования: Ленченко Е. М., Сачивкина Н. П. Исследование биопленок и фенотипических признаков грибов рода *Candida*. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 132–138. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-132-138.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Ленченко Екатерина Михайловна, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «МГУПП», 125080, Россия, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11, *e-mail: lenchenko-ekaterina@yandex.ru.*

UDC 619:576.807.9

Studies of biofilms and phenotypic characteristics of *Candida* fungi

E. M. Lenchenko[1], N. P. Sachivkina[2]

[1] Moscow State University of Food Production (FGBOU VO MGUPP), Moscow, Russia

[2] Peoples' Friendship University of Russia (RUDN), Moscow, Russia

[1] *ORCID 0000-0003-2576-2020, e-mail: lenchenko-ekaterina@yandex.ru*

[2] *ORCID 0000-0003-1100-929X, e-mail: sachivkina@yandex.ru*

SUMMARY

Yeast-like fungi of the genus *Candida* are causative agents of the infectious pathology of the mucous membrane of the gastrointestinal, respiratory, urogenital tracts and skin of mammals, sepsis, and disseminated infection in birds. The search and testing of multilevel algorithms for biofilm identification when exposed to chemotherapeutic and disinfectant drugs for blocking the synthesis or destruction of the intercellular matrix in the development of superficial, deep and systemic candidiasis of animals are relevant for developing and improving diagnostic and antiepidemic measures. It was established that the formation of biofilm heterogeneous structure comprises multiple stages implementing the processes of intercellular communication due to the synthesis of a polymer matrix composites. Optical microscopy revealed a three-dimensional structure of biofilms in the form of a dense network consisting of yeast cells, hyphal and pseudohyphalic forms

surrounded by an intercellular polymer matrix. *Candida* spp. pathogenicity factors contribute to infection of susceptible species due to adhesion, invasion, secretion of hydrolases, dimorphism. Formation of mono-species or poly-species biofilms of microorganisms, including *Candida* spp., causes the development of superficial, deep and systemic candidiasis. Detection of a large amount of yeast and micellar phases in *C. albicans* and *C. africana* isolates was a differential sign of a significant degree of colonization of the mucous membranes of the larynx, pharynx, and tonsils in case of local and systemic pathologies in pigs. The results of studies of the biofilm heterogeneous structure and phenotypic signs of yeast-like fungi can be used in a comparative study of biological characteristics and the identification of common patterns and differential signs of microorganisms, optimization of mycological diagnostics, and also in the development of antimycotic drugs.

Key words: microscopic fungi, *Candida* spp., biofilms, optical density, microscopy, phenotypic characters.

Acknowledgements: The authors are grateful to the Moscow State University of Food Production (FGBOU VO MGUPP) and Peoples' Friendship University of Russia (RUDN) for provided opportunity to perform the research activities.

For citation: Lenchenko E. M., Sachivkina N. P. Studies of biofilms and phenotypic characteristics of *Candida* fungi. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 132–138. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-132-138.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Ekaterina M. Lenchenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Department of Veterinary Medicine, Moscow State University of Food Production, 125080, Russia, Moscow, Volokolamskoye Shosse, 11, *e-mail: lenchenko-ekaterina@yandex.ru.*

ВВЕДЕНИЕ

Из многочисленных представителей рода *Candida* патогенными для человека признаны 20 видов, из них прежде всего: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* [1, 2]. Этиологическая структура кандидоза сельскохозяйственных животных представлена видами *C. albicans* и *C. tropicalis*, изолированными при патологии преджелудков (48,07%) и сычуга (75,0%) телят, желудка поросят (88,26%), а также ротовой полости, пищевода и зоба молодняка птицы [3–5]. Клинические признаки болезни наблюдаются в раннем постнатальном периоде (до 2-месячного возраста), в частности творожистоподобные или пленчатые наложения выявляли в многослойном плоском эпителии органов пищеварительной системы (ротовая полость, пищевод, рубец, сетка, книжка) телят и ягнят [3]. При мастите коров из проб молока чаще идентифицировали виды *C. krusei* (*n* = 14) и *C. parapsilosis* (*n* = 6), реже – *C. lipolytica*, *C. lusitaniae*, *C. neoformans* [6]. Висцеральный кандидамикоз поросят, занимающий 4-е место в нозологическом профиле инфекционной патологии, по частоте встречаемости достигает 13,36% [4]. Из тканей и органов свиней с клиническими признаками кандидоза изолированы и идентифицированы 13 (68,42%) культур микроорганизмов *C. albicans* и 6 (31,57%) *C. africana* [7]. При кандидозе серебристо-черных лисиц, собак и кошек регистрируют как незначительные поражения кожи и производных кожного покрова, так и интенсивные поражения в форме язв, гиперкератоза и локальных алопеций [8]. Наиболее восприимчивы к данному заболеванию цыплята и индюшата, не достигшие месячного возраста. Подострый или хронический кандидамикоз протекает у птиц в виде эпизоотических вспышек. Как правило, характеризуется образованием интенсивных наложений желто-серого цвета, плотно прикрепленных к слизистой оболочке пищевода, зоба, при удалении которых обнажаются язвенные очаги [9, 10].

При хронических инфекционных патологиях сельскохозяйственных животных установлены прямые корреляционные связи между морфологическими и денситометрическими показателями биопленок и реализацией факторов вирулентности микроорганизмов, в том числе и дрожжеподобных грибов [11–14]. Этиологическая значимость факторов вирулентности патогенных микроорганизмов при инфицировании восприимчивых видов реализуется за счет синтеза полимерных веществ, транскрипционного контроля адгезии, инвазии, секреции токсинов [15–20]. Гетероморфный рост популяций способствует взаимодействию микроорганизмов различных таксономических групп, что обусловливают вирулентность и защиту биопленок микроорганизмов от иммунного ответа, а также от воздействия химиотерапевтических препаратов и дезинфицирующих средств [21–24]. Транспорт матричной РНК *Candida* spp. инактивируется при удалении так называемого адаптера She3, гифы становятся специфически дефектными, что сопровождается нетипичным ростом и снижением способности повреждать монослой эпителиальных клеток за счет снижения продукции фосфолипазы В [25, 26].

Для разработки и совершенствования диагностических и противоэпизоотических мероприятий актуальность представляют изыскание и апробация многоуровневых алгоритмов индикации биопленок при воздействии химиотерапевтических и дезинфицирующих препаратов для блокировки синтеза или разрушения межклеточного матрикса при развитии поверхностных, глубоких и системных кандидозов животных.

Цель работы – изучить морфометрические и денситометрические показатели биопленок и фенотипические признаки референтных штаммов и изолятов дрожжеподобных грибов *Candida* spp.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы. Исследование биопленок и фенотипических признаков проводили с использованием референтных штаммов (АТСС): *Candida albicans* ATCC 14053, *C. parapsilosis* ATCC 22019, *C. tropicalis* ATCC 750, *C. glabrata* ATCC 66032 [27]. В опытах также использовали выделенные нами изоляты: *C. albicans* и *C. africana* – из лимфатических узлов свиней при локальных или системных патологиях; *C. albicans* и *C. tropicalis* – из вагинальной слизи собак при наличии клинических признаков кандидоза, а также *C. humilis* – из комбикорма для крупного рогатого скота [7, 25].

Питательные среды. Микроорганизмы культивировали в течение 24 ч при 37, 42, 45 °С, применяя жидкие и плотные питательные среды: сердечно-мозговой бульон (HiMedia, Индия), Сабуро (bioMerieux, Франция), HiCrome Candida Agar (HiMedia, Индия). Наличие хламидоспор учитывали при посеве 24-часовой культуры микроорганизмов с питательной среды Сабуро на рисовый агар (API-System R.A.T., Франция) и культивировали 24 ч при 25 °С.

Для оценки образования проростковых трубок микроорганизмы культивировали в 1,0 мл мясо-пептонного бульона (МПБ) с добавлением сыворотки крови крупного рогатого скота (АО «НПО «Микроген», Россия) при 37 °С в течение 5 ч.

Фенотипические признаки. Изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств микроорганизмов проводили общепринятыми методами с использованием дифференциально-диагностических сред и тест-систем [1, 2].

Для учета ферментативных признаков суточные культуры микроорганизмов *Candida* spp. (оптическая плотность OD = 0,5 при длине волны 620 нм) вносили в лунки тест-системы HiCandida Identification Kit (HiMedia, Индия) и культивировали 48 ч при 22,5 °С.

Морфометрические показатели биопленок. Микроорганизмы культивировали 48 ч при 37 °С на покровных стеклах, размещенных в чашках Петри, с 20 мл МПБ и 5 мл взвеси 18-часовых культур микроорганизмов в концентрации 10^5 КОЕ/мл. Препараты фиксировали смесью спирта и эфира (1:1) в течение 10 мин, окрашивали 0,5%-м раствором метиленового синего [12, 21].

Исследование проводили при репрезентативной выборке достоверной частоты встречаемости – ≥ 90,0% поля зрения оптического микроскопа «БИОМЕД МС-1 Стерео» (БИОМЕД, Россия).

Денситометрические показатели. При культивировании в 96-луночном планшете (Медполимер, Россия) учитывали степень связывания кристаллического фиолетового (HiMedia, Индия), используя фотометрический анализатор Immunochem-2100 (HTI, USA). В лунки планшетов вносили исследуемые образцы (оптическая плотность OD_{580}, длина волны 580 нм) и культивировали при 37 °С в течение 48 ч. Затем жидкость удаляли, лунки планшетов трижды промывали 200 мкл фосфатно-буферного раствора (pH 7,3). Фиксацию проводили 150 мкл 96%-го этанола в течение 15 мин. Затем лунки планшетов подсушивали 20 мин при 37 °С и вносили 0,5%-й раствор кристаллического фиолетового, опять помещали в термостат при 37 °С. Через 5 мин содержимое лунок удаляли, трижды промывали 200 мкл фосфатно-буферного раствора (pH 7,2) и подсушивали. Краситель элюировали 200 мкл 96%-го этанола в течение 30 мин [16, 28, 29].

Полученные при проведении эксперимента данные обрабатывали методом статистического анализа с использованием критерия Стьюдента, результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Candida spp. – грамположительные овальные почкующиеся микроорганизмы. Дрожжевая фаза изученных видов была представлена относительно крупными округлой или овальной формы почкующимися клетками 2,0–6,0 мкм в диаметре, мицеллярная фаза – группами круглых мелких клеток (бластоспор) и гиф.

Микроорганизмы *C. albicans* и *C. humilis* имели круглые, субсферические, эллиптические формы клеток размером 2,0–3,0 × 3,0–5,0 мкм.

Клетки *C. parapsilosis* и *C. tropicalis* размером 1,7–2,0 × 3,0–4,0 мкм имели эллиптическую вытянутую форму, выявлялся также мицелий с группами круглых мелких клеток – бластоспор (рис. 1).

Индикация в большом количестве дрожжевой и мицеллярной фаз у изолятов *C. albicans* и *C. africana*, выделенных из лимфатических узлов свиней, являлась дифференциальным признаком значительной степени колонизации слизистых оболочек гортани, глотки и миндалин при локальных и системных патологиях.

Популяционная иммобилизация архитектоники зрелой трехмерной биопленки, в соответствии с условиями культивирования, сопровождалась коагрегацией дрожжевых и мицеллярных форм, объединенных экзоцеллюлярным матриксом, наличием длинных разветвленных гифальных форм, формирующих плотные структуры из псевдомицелия. В центральной части микроколонии имели более выраженный матрикс, поэтому дрожжевые формы и мицелий не выявлялись. В периферической части биопленок, как правило, экзоцеллюлярный матрикс постепенно истончался, выявлялись отдельные дрожжевые клетки и мицеллярные формы (рис. 2).

При оценке денситометрических показателей культуры микроорганизмов установили, что че-

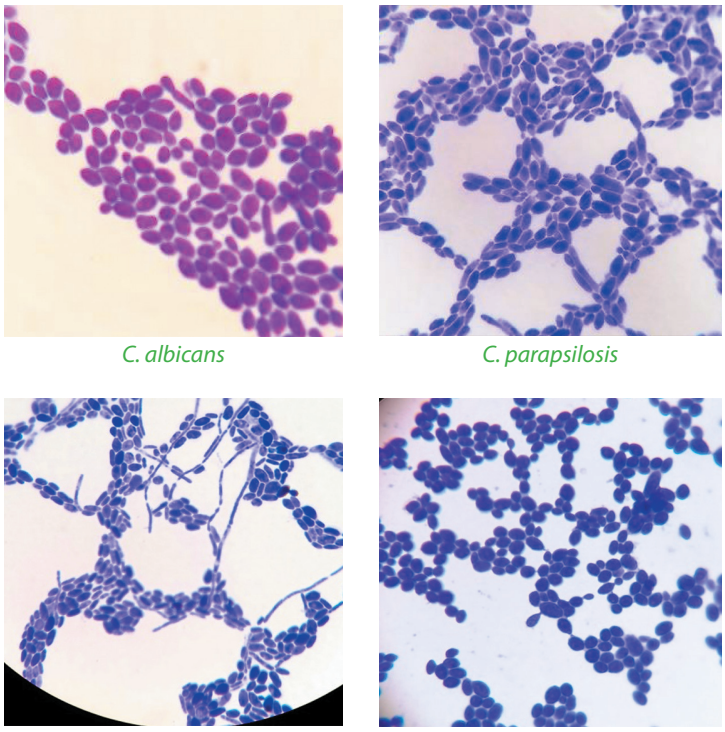


Рис. 1. Морфология дрожжеподобных грибов. Рост при 25 °С 24 ч на среде Сабуро. Окрашивание метиленовым синим, ок. 10, об. 100, иммерсия.

Fig. 1. Morphology of yeast-like fungi. Growth at 25 °C for 24 h in Saburo medium. Methylene blue staining, oc. 10, ob. 100, immersion.

рез 48 ч культивирования *C. albicans* (ATCC 14053) и *C. africana*, выделенных из лимфатических узлов поросят, значения абсолютных величин оптической плотности (OD_s) были в диапазоне от 0,423 ± 0,11 до 0,510 ± 0,19, а интенсивность формирования биопленок *ID* ≥ 0,3–0,4.

Микроорганизмы *C. albicans* и *C. tropicalis* (ATCC 750), выделенные из вагинальной слизи собаки, а также *C. glabrata* (ATCC 66032), *C. parapsilosis* (ATCC 22019) показали значения OD_s в диапазоне от 0,331 ± 0,10 до 0,350 ± 0,08, интенсивность формирования биопленок *ID* ≥ 0,2–0,3.

Микроорганизмы *C. humilis*, выделенные из комбикорма для крупного рогатого скота, продемонстрировали OD_s в диапазоне от 0,208 ± 0,06 до 0,288 ± 0,11, интенсивность формирования биопленок *ID* ≥ 0,1–0,2 (табл. 1).

Референтные штаммы и изоляты дрожжеподобных грибов *Candida* spp., независимо от источника выделения, имели характерный для вида рост, являющийся вполне информативным по наличию осадка, пленки и степени мутности среды. При учете толерантности микроорганизмов к температуре дифференциальным признаком видов *C. africana* и *C. parapsilosis* являлось отсутствие роста на среде Сабуро при 45 °C (табл. 2).

В составе среды HiCrome Candida Agar содержится хлорамфеникол, подавляющий рост сопутствующих микроорганизмов. Наличие хромогенных субстратов позволяет дифференцировать колонии микроорганизмов *Candida* spp., которые отличались по размерам, форме, цвету и консистенции. Вместе с тем виды *C. albicans* и *C. africana* на указанной среде формировали сходные зеленого цвета колонии.

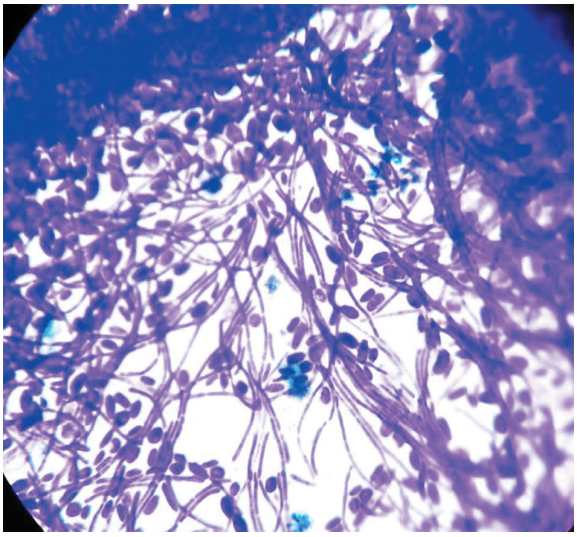


Рис. 2. Морфология дрожжеподобных грибов C. tropicalis. Рост при 37 °C 48 ч на среде Сабуро. Окрашивание метиленовым синим, ок. 10, об. 100, иммерсия.

Fig. 2. Morphology of yeast-like fungi C. tropicalis. Growth at 37 °C for 48 h in Saburo medium. Methylene blue staining, oc. 10, ob. 100, immersion.

Таблица 1
Денситометрические показатели формирования биопленок *Candida* spp.

Table 1
Densitometric parameters of *Candida* spp. biofilm formation

Виды микроорганизмов	Оптическая плотность ($n = 3$)		
	OD_s*	Δ (OD_s – OD_c)**	Интенсивность (*ID*)***
Референтные штаммы			
C. albicans, ATCC 14053	0,423 ± 0,11	0,325 ± 0,20	≥ 0,3–0,4
C. tropicalis, ATCC 750	0,342 ± 0,13	0,244 ± 0,22	≥ 0,2–0,3
C. parapsilosis, ATCC 22019	0,350 ± 0,08	0,252 ± 0,17	≥ 0,2–0,3
C. glabrata, ATCC 66032	0,288 ± 0,11	0,130 ± 0,20	≥ 0,1–0,2
Изоляты			
C. albicans (лимфатический узел поросят)	0,482 ± 0,09	0,384 ± 0,18	≥ 0,3–0,4
C. africana (лимфатический узел поросят)	0,510 ± 0,19	0,412 ± 0,28	≥ 0,3–0,4
C. albicans (вагинальная слизь собаки)	0,398 ± 0,16	0,300 ± 0,25	≥ 0,2–0,3
C. tropicalis (вагинальная слизь собаки)	0,331 ± 0,10	0,213 ± 0,19	≥ 0,2–0,3
C. humilis (комбикорм)	0,208 ± 0,06	0,110 ± 0,15	≥ 0,1–0,2

* OD_s – оптическая плотность образца (optical density of the sample);
** OD_c – оптическая плотность контроля (optical density of the control sample);
*** *ID* – интенсивность: разность оптической плотности исследуемого образца (OD_s) и контроля (OD_c) (intensity: the difference between the optical density of the test sample (OD_s) and control sample (OD_c).

Таблица 2
Фенотипические признаки *Candida* spp.

Table 2
Phenotypic characteristics of *Candida* spp.

Виды микроорганизмов	Дифференциальные признаки через 48 ч культивирования			
	Среда Сабуро			HiCrome Candida Agar
	37 °C	42 °C	45 °C	
Референтные штаммы				
C. albicans, ATCC 14053	+	+	+	зеленый цвет колоний
C. tropicalis, ATCC 750	+	+	+	голубой цвет колоний
C. parapsilosis, ATCC 22019	+	+	–	бледно-розовый цвет колоний
C. glabrata, ATCC 66032	+	+	+	кремовый цвет колоний
Изоляты				
C. albicans (лимфатический узел поросят)	+	+	+	зеленый цвет колоний
C. albicans (вагинальная слизь собаки)	+	+	+	зеленый цвет колоний
C. africana (лимфатический узел поросят)	+	+	–	зеленый цвет колоний
C. tropicalis (вагинальная слизь собаки)	+	+	+	голубой цвет колоний
C. humilis (комбикорм)	+	+	+	сиреневый цвет колоний

«+» – присутствие характерного для вида роста (species characteristic growth is observed);
«–» – отсутствие характерного для вида роста (species characteristic growth is not observed).

Диагностический тест наличия проростковых трубок, являющихся предшественниками истинных гиф, позволяет дифференцировать грибы через 5 ч при 37 °C культивирования микроорганизмов в МПБ с добавлением сыворотки крови крупного рогатого скота. Изученные виды микроорганизмов были способны расти в присутствии циклогексимида, уреазной активностью не обладали. Микроорганизмы *C. africana*, в отличие от других видов, сбраживали сахарозу и рафинозу и не сбраживали мальтозу, виды *C. humilis* и *C. glabrata* не сбраживали галактозу и ксилозу, *C. parapsilosis* не сбраживали трегалозу (табл. 3).

В целом формирование гетерогенной структуры биопленок референтных штаммов и изолятов дрожжеподобных грибов *Candida* spp. представляет собой множество этапов, реализующих процессы межклеточной коммуникации за счет синтеза полимерного матрикса. Результаты исследований гетерогенной структуры биопленок, фенотипических признаков и факторов вирулентности микроорганизмов расширяют границы познания общей и частной микологии, а прикладные аспекты – выявление общих закономерностей и дифференциальных признаков сапрофитов, потенциально патогенных и патогенных микроорганизмов – имеют перспективы применения для оптимизации схемы диагностики инфекционной патологии и разработки антимикотических препаратов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При изучении морфометрических показателей биопленок референтных штаммов и изолятов дрожжеподобных грибов *Candida* spp. выявляли трехмерную структуру биопленок в виде плотной сети, состоящей из дрожжевых клеток, гифальных и псевдогифальных форм, окруженных межклеточным полимерным матриксом. Индикация в большом количестве дрожжевой и мицеллярной фаз у изолятов *C. albicans* и *C. africana* являлась дифференциальным признаком значительной степени колонизации слизистых оболочек гортани, глотки и миндалин при локальных и системных патологиях свиней.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 6, 10, 11, 13, 14, 16–18, 22, 24–29 см. REFERENCES)

1. Мороз А. Ф., Снегирева А. Е. Методические рекомендации. Грибы рода *Candida* (методы выделения, идентификации на видовом уровне и определение чувствительности к противогрибковым препаратам): утв. директором НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи РАМН 20.04.2009. М.; 2009; 58 с. Режим доступа: http://www.himedialabs.ru/download/fungal.pdf.

2. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов: пер. с англ. К. Л. Тарасова, Ю. Н. Ковалева; под ред. И. Р. Дорожковой. М.: Мир; 2001. 468 с.

3. Агольцов В. А. Кандидоз, аспергиллез и мукороз животных (диагностика и меры борьбы): автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Н. Новгород; 2006. 50 с. Режим доступа: http://disus.ru/r-raznoe/272146-1-kandidoz-aspergillez-mukoroz-zhivotnih-diagnostika-meri-borbi.php.

4. Лысухо Т. Н. Висцеральный кандидамикоз поросят: эпизоотические особенности, клинические и патоморфологические проявления,

Таблица 3
Дифференциально-диагностические признаки *Candida* spp.

Table 3
Differential diagnostic characteristics of *Candida* spp.

Виды	Углеводы											
	Уреаза	Мелибиоза	Лактоза	Мальтоза	Сахароза	Галактоза	Целлобиоза	Инозит	Ксилоза	Дульцит	Рафиноза	Трегалоза
Референтные штаммы												
C. albicans, ATCC 14053	–	–	–	+	+	+	–	–	+	–	–	+
C. tropicalis, ATCC 750	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	–	+
C. parapsilosis, ATCC 22019	–	–	–	+	+	–	–	–	+	–	–	–
C. glabrata, ATCC 66032	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	+
Изоляты												
C. albicans (лимфатический узел поросят)	-	–	–	+	+	+	–	–	+	–	–	+
C. albicans (вагинальная слизь собаки)	–	–	–	+	+	+	–	–	+	–	–	+
C. africana (лимфатический узел поросят)	–	–	–	–	+	+	–	–	+	–	+	+
C. tropicalis (вагинальная слизь собаки)	–	–	–	+	+	+	+	–	+	–	–	+
C. humilis (комбикорм)	–	–	–	+	–	+	–	–	+	–	–	+

«+» – положительный тест (positive test result);
«–» – отрицательный тест (negative test result).

лечебно-профилактические мероприятия: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Ставрополь; 2001. 18 с. Режим доступа: https://rusneb.ru/catalog/000200_000018_RU_NLR_bibl_560584/viewer.

5. Себряков Е. В. Структурно-функциональная характеристика грибов рода *Candida* и патогенетические особенности кандидамикоза сельскохозяйственных животных: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. М.; 1991. 51 с. Режим доступа: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_000347294/viewer/?page=8.

7. Сачивкина Н. П., Ленченко Е. М., Лисейцев А. В. Диагностика кандидоза у свиней. *Ветеринария*. 2018; 11: 26–30. DOI: 10.30896/0042-4846.2018.21.11.26-30.

8. Апанасенко Н. А. Специфические терапия и профилактика кожного кандидоза плотоядных животных: автореф. дис. ... канд. вет. наук. М.; 2010. 24 с. Режим доступа: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_004613111/viewer.

9. Бессарабов Б. Ф., Вашутин А. А., Воронин Е. С., и др. Инфекционные болезни животных. Под. ред. А. А. Сидорчука М.: КолосС; 2007. 671 с. Режим доступа: https://www.studmed.ru/view/bessarabov-bf-vashutin-aa-voronin-es-i-dr-infekcionnye-bolezni-zhivotnyh_30a18b3684f.html?page=1.

12. Ленченко Е. М., Блюменкранц Д. А. Изучение биопленок энтеробактерий, образующихся при болезнях органов пищеварения животных. *Ветеринария*. 2020; 1: 25–29. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.1.25-29.

15. Ленченко Е. М., Мансурова Е. А., Моторыгин А. В. Характеристика токсигенности энтеробактерий, выделенных при желудочно-кишечных болезнях сельскохозяйственных животных. *Сельскохозяйственная биология*. 2014; 2: 94–104. DOI: 10.15389/agrobiology.2014.2.94rus.

19. Маноян М. Г., Соколов В. В., Гуршева А. С., Габузян Н. А., Панин А. Н. Оценка рисков возникновения резистентности к антимикотическим средствам. *Успехи медицинской микологии*. 2019; 20: 706–711. eLIBRARY ID: 38171260.

20. Хайтович А. Б., Гаффарова А. С. Факторы патогенности *Candida albicans* и определение их генных детерминант. *Таврический медико-биологический вестник*. 2016; 19 (3): 121–126. eLIBRARY ID: 27687028.

21. Ленченко Е. М. Морфофункциональные свойства и популяционная изменчивость иерсиний, поражающих сельскохозяйственных животных, в зависимости от температурного фактора. *Сельскохозяйственная биология*. 1996; 6: 88–95.

23. Елинов Н. П. Новое в таксономии *Candida* species (лекция). *Проблемы медицинской микологии*. 2010; 12 (3): 3–9. Режим доступа: http://www.rusmedserv.com/mycology/html/mapo_3_2010.pdf.

REFERENCES

1. Moroz A. F., Snegireva A. E. Methodical recommendations. Fungi of the genus *Candida* (methods of isolation, identification at the species level and determination of sensitivity to antifungal drugs) [Metodicheskie rekomendacii. Griby roda *Candida* (metody vydeleniya, identifikacii na vidovom urovne i opredelenie chuvstvitel'nosti k protivogribkovym preparatam)]: approved by the Director of NIIEM, after N. F. Gamalei RAMS 20.04.2009. M.; 2009; 58 p. Available at: http://www.himedialabs.ru/download/fungal.pdf. (in Russian)

2. Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. Identifier of pathogenic and opportunistic fungi [Opredelitel' patogennyh i uslovno patogennyh gribov]: trans. from English K. L. Tarasova, Yu. N. Kovaleva; ed. by I. R. Dorozhkova. M.: Mir; 2001. 468 p. (in Russian)

3. Agoltsov V. A. Candidiasis, aspergillosis and animal mucorosis (diagnosis and control measures) [Kandidoz, aspergillez i mukoroz zhivotnyh (diagnostika i mery bor'by)]: Author's abstract. thesis ... Doctor of Sciences (Vet. Med.). N. Novgorod; 2006. 50 p. Available at: http://disus.ru/r-raznoe/272146-1-kandidoz-aspergillez-mukoroz-zhivotnih-diagnostika-meri-borbi.php. (in Russian)

4. Lysuho T. N. Visceral candidiasis of piglets: epizootic features, clinical and pathomorphological manifestations, treatment and prophylactic measures [Visceral'nyj kandidamikoz porosyat: epizooticheskie osobennosti, klinicheskie i patomorfologicheskie proyavleniya, lechebno-profilakticheskie meropriyatiya]: Author's abstract. thesis ... Cand. of Sciences (Vet. Med.). Stavropol; 2001. 18 p. Available at: https://rusneb.ru/catalog/000200_000018_RU_NLR_bibl_560584/viewer. (in Russian)

5. Sebryakov Ye. V. Structural and functional characteristics of fungi of the genus *Candida* and pathogenetic features of candidiasis in farm animals [Strukturno-funkcional'naya harakteristika gribov roda *Candida* i patogeneticheskie osobennosti kandidamikoza sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh]: Author's abstract. thesis … Doctor of Sciences. (Vet. Med.). M.; 1991. 51 p. Available at: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_000347294/viewer/?page=8. (in Russian)

6. Du J., Wang X., Luo H. Epidemiological investigation of non-albicans *Candida* species recovered from mycotic mastitis of cows in Yinchuan, Ningxia of China. *BMC Vet. Res*. 2018; 14:251. DOI: 10.1186/s12917-018-1564-3.

7. Sachivkina N., Lenchenko E. M., Lyseizev A. V. Diagnostic of swine candidiasis. *Veterinariya*. 2018; 11: 26–30. DOI: 10.30896/0042-4846.2018.21.11.26-30. (in Russian)

8. Apanasenko N. A. Specific therapy and prevention of cutaneous candidiasis of carnivores [Specificheskie terapiya i profilaktika kozhnogo kandidoza plotoyadnyh zhivotnyh]: Author's abstract, thesis ... Cand. of Sciences (Vet. Med.). M.; 2010. 24 p. Available at: https://rusneb.ru/catalog/000199_000009_004613111/viewer. (in Russian)

9. Bessarabov B. F., Vashutin A. A., Voronin Ye. S., et al. Infectious diseases of animals [Infekcionnye bolezni zhivotnyh]. Ed. by A. A. Sidorchuk. M.: KolosS; 2007. 671 p. Available at: https://www.studmed.ru/view/bessarabov-bf-vashutin-aa-voronin-es-i-dr-infekcionnye-bolezni-zhivotnyh_30a18b3684f.html?page=1. (in Russian)

10. Asfaw M., Dawit D. Review on major fungal disease of poultry. *British J. Poultry Sci*. 2017; 6 (1): 16–25. DOI: 10.5829/idosi.bjps.2017.16.25.

11. Laffey S. F., Butler G. Phenotype switching affects biofilm formation by *Candida parapsilosis*. *Microbiology*. 2005; 151 (Pt 4): 1073–1081. DOI: 10.1099/mic.0.27739-0.

12. Lenchenko E. M., Blumenkrants D. A. Study of biofilms of enterobacteria appeared in animals with alimentary diseases. *Veterinariya*. 2020; 1: 25–29. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.1.25-29. (in Russian)

13. Ruiz A. C., Calderón D. M., Gómez J. E. Molecular variation of *Candida* spp. isolates using Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), from women in Armenia, Colombia. *Infectio*. 2009; 13 (1): 21–35. DOI: 10.1016/S0123-9392(09)70140-7.

14. Kaneko Y., Miyagawa S., Takeda O., Hakariya M., Matsumoto S., Ohno H., et al. Real-time microscopic observation of *Candida* biofilm development and effects due to micafungin and fluconazole. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2013; 57 (5): 2226–2230. DOI: 10.1128/AAC.02290-12.

15. Lenchenko E. M., Mansurova E. A., Motorygin A. V. Characterization of toxigenic *Enterobacteriaceae* from farm animals with gastrointestinal diseases. *Agricultural Biology* [*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*]. 2014; 2: 94–104. DOI: 10.15389/agrobiology.2014.2.94rus. (in Russian)

16. Lenchenko E., Lozovoy D., Strizhakov A., Vatnikov Yu., Byakhova V., Kulikov Eu., et al. Features of formation of *Yersinia enterocolitica* biofilms. *Vet. World*. 2019; 12 (1): 136–140. DOI: 10.14202/vetworld.2019.136-140.

17. Lenchenko E., Blumenkrants D., Sachivkina N., Shadrova N., Ibragimova A. Morphological and adhesive properties of *Klebsiella pneumoniae* biofilms. *Vet. World*. 2020; 13 (1): 197–200. DOI: 10.14202/vetworld.2020.197-200.

18. Mannapova R. T., Shajhulow R. R. Dynamics of *Lactobacillus* spp. against the backdrop of candidiasis in the digestive tract of geese. *Materials of the International Conference: Scientific Research of the SCO Countries: Synergy and Integration*. Beijing: PRC; 2018. 248–252.

19. Manoyan M. G., Sokolov V. V., Gursheva A. S., Gabuzyan N. A., Panin A. N. Assessment of the risks of antimycotic drug resistance [Ocenka riskov vozniknoveniya rezistentnosti k antimikoticheskim sredstvam]. *Advances in Medical Mycology*. 2019; 20: 706–711. eLIBRARY ID: 38171260. (in Russian)

20. Khaitovich A. B., Gaffarova A. S. Pathogenicity factors of *Candida albicans* and determination of their genes. *Tavricheskiy Mediko-Biologicheskiy Vestnik*. 2016; 19 (3): 121–126. eLIBRARY ID: 27687028. (in Russian)

21. Lenchenko E. Morphofunctional properties and population variability of Yersinia affecting farm animals, depending on the temperature factor [Morfofunkcional'nye svojstva i populyacionnaya izmenchivost' iersinij, porazhayushchih sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh, v zavisimosti ot temperaturnogo faktora]. *Agricultural Biology* [*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*]. 1996; 6: 88–95. (in Russian)

22. Lenchenko E. M., Vatnikov Yu. A., Kulikov E. V., Lozovoy D. A., Gavrilov V. A., Gnezdilova L. A., et al. Aspects of Salmonellosis pathogenesis using chicken models. *Bali Med. J*. 2019; 8 (1): 206–210. DOI: 10.15562/bmj.v8i1.920.

23. Yelinov N. P. News in *Candida* species taxonomy (lecture). *Problems in Medical Mycology*. 2010; 12 (3): 3–9. Available at: http://www.rusmedserv.com/mycology/html/mapo_3_2010.pdf. (in Russian)

24. Treviño-Rangel R. de J., González G. M., Martínez-Castilla A. M., García-Juárez J., Robledo-Leal E. R., González J. G., et al. *Candida parapsilosis* complex induces local inflammatory cytokines in immunocompetent mice. *Med. Mycol.* 2015; 53 (6): 612–621. DOI: 10.1093/mmy/myv021.

25. Sachivkina N., Lenchenko E., Strizakov A., Zimina V., Gnesdilova L., Gavrilov V., et al. The evaluation of intensity of formation of biomembrane by microscopic fungi of the *Candida* genus. *Int. J. Pharmaceutical Res*. 2018; 10 (4): 738–744. DOI: 10.31838/ijpr/2018.10.04.128.

26. Wu Y., Min F., Pan J., Wang J., Yuan W., Zhang Yu., et al. Systemic *Candida parapsilosis* infection model in immunosuppressed ICR mice and assessing the antifungal efficiency of Fluconazole. *Vet. Med. Int*. 2015; 2015:370641. DOI: 10.1155/2015/370641.

27. ATCC: The Global Bioresource Center. Available at: https://www.lgcstandards-atcc.org.

28. Chandra J., Mukherjee P. K. *Candida* Biofilms: Development, Architecture, and Resistance. *Microbiol. Spectr.* 2015; 3 (4). DOI: 10.1128/microbiolspec. MB-0020-2015.

29. Chandra J., Kuhn D. M., Mukherjee P. K., Hoyer L. L., McCormick T., Ghannoum M. A. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resistance. *J. Bacteriol.* 2001; 183 (18): 5385–5394. DOI: 10.1128/jb.183.18.5385-5394.2001.

Поступила 09.03.2020
Принята в печать 12.05.2020

Received on 09.03.2020
Approved for publication on 12.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ленченко Екатерина Михайловна, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарной медицины Московского государственного университета пищевых производств, г. Москва, Россия.

Сачивкина Надежда Павловна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии медицинского института Российского университета дружбы народов, г. Москва, Россия.

Ekaterina M. Lenchenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Department of Veterinary Medicine, Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia.

Nadezda P. Sachivkina, Candidate of Science (Biology), Associate Professor, Department of Microbiology and Virology, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia.

УДК 619:615.9:636.085.19:543.9
DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-139-145

Микотоксикологический мониторинг. Сообщение 2. Зерно пшеницы, ячменя, овса, кукурузы*

Г. П. Кононенко[1], А. А. Буркин[2], Е. В. Зотова[3]

Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии – филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» (ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), г. Москва, Россия

[1] *ORCID 0000-0002-9144-615X, e-mail: kononenkogp@mail.ru*

[2] *ORCID 0000-0002-5674-2818, e-mail: aaburkin@mail.ru*

[3] *ORCID 0000-0002-1479-8602, e-mail: ezotova63@gmail.com*

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты микотоксикологического обследования средних образцов от партий фуражного и заготовляемого зерна пшеницы, ячменя, овса и кукурузы, предоставленных специалистами ветеринарных служб, животноводческих и комбикормовых предприятий, компаний-сельхозпроизводителей, специализированных коммерческих организаций и владельцами крестьянских фермерских хозяйств из 7 федеральных округов Российской Федерации в период с 2009 по 2019 г. Сравнимые по объему выборки зерна пшеницы и ячменя были получены из Центрального, Приволжского, Уральского и Сибирского федеральных округов. Из Южного федерального округа число образцов пшеницы было больше, чем ячменя, а зерно кукурузы поступало в основном из субъектов Центрального федерального округа. Детектирование и измерение содержания фузариотоксинов, включающих Т-2 токсин, диацетоксисцирпенол, дезоксиниваленол, зеараленон и фумонизины группы В, а также альтернариола, охратоксина А, цитринина, афлатоксина B_1, стеригматоцистина, циклопиазоновой кислоты, микофеноловой кислоты, эргоалкалоидов и эмодина проводили по аттестованной процедуре с использованием конкурентного иммуноферментного анализа. В ходе обобщения результатов установлена доминирующая роль фузариотоксинов и активное участие альтернариола в контаминации всех видов зернофуража, а также частая встречаемость эмодина в зерне колосовых культур и повышенная распространенность Т-2 токсина и охратоксина А в зерне ячменя. Для основных контаминантов отмечено смещение медиан и 90%-го процентиля в сторону меньших значений по отношению к средним и максимальным содержаниям, что указывало на возможность их накопления за пределами типичного диапазона. Наибольшие уровни Т-2 токсина, дезоксиниваленола и охратоксина А, а также показатели 90%-го процентиля превышали допустимые нормы содержания. В зерне кукурузы комплекс анализированных фузариотоксинов представлен полностью с наибольшей встречаемостью Т-2 токсина, дезоксиниваленола, зеараленона и фумонизинов, и максимальные количества этих микотоксинов в несколько раз превышали принятые уровни нормирования. Диацетоксисцирпенол, афлатоксин B_1, стеригматоцистин, циклопиазоновая кислота и эргоалкалоиды отнесены к редким контаминантам кормового зерна. Факт обширной распространенности в зерне альтернариола и эмодина, известного как «диарейный фактор», а также контаминации зерна кукурузы микофеноловой кислотой – микотоксином с иммунодепрессивным действием, приведены в данной работе впервые. Эта информация подтверждает необходимость их введения в группу нормируемых санитарно-значимых показателей. Исходные данные мониторинга, систематизированные и обобщенные в данной работе, представлены в электронном виде в разделе «Дополнительные материалы».

Ключевые слова: зерно пшеницы, ячменя, овса, кукурузы, микотоксины, мониторинг, иммуноферментный анализ.

Для цитирования: Кононенко Г. П., Буркин А. А., Зотова Е. В. Микотоксикологический мониторинг. Сообщение 2. Зерно пшеницы, ячменя, овса, кукурузы. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 139–145. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-139-145.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Кононенко Галина Пантелеевна, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией микотоксикологии и санитарии кормов ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, 123022, Россия, г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 5, *e-mail: kononenkogp@mail.ru.*

UDC 619:615.9:636.085.19:543.9

Mycotoxilogical monitoring. Part 2. Wheat, barley, oat and maize grain*

G. P. Kononenko [1], A. A. Burkin [2], Ye. V. Zotova [3]

All-Russia Research Institute of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology – Branch of the Federal State-Financed Scientific Institution "Federal Scientific Centre – All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scryabin and Ya.R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia (ARRIVSHE – Branch of the FSFSI FSC ARRIEVM RAS), Moscow, Russia

[1] *ORCID 0000-0002-9144-615X, e-mail: kononenkogp@mail.ru*

[2] *ORCID 0000-0002-5674-2818, e-mail: aaburkin@mail.ru*

[3] *ORCID 0000-0002-1479-8602, e-mail: ezotova63@gmail.com*

* Сообщение 1 см. *Ветеринария сегодня.* 2020; 1 (32): 60–65. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-60-65.

* Part 1: *Veterinary Science Today.* 2020; 1 (32): 60–65. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-60-65.

SUMMARY

Results of mycotoxicological survey of representative samples of feed and procured wheat, barley, oat and maize grain batches are demonstrated. The samples were submitted by the Veterinary Service officials, livestock farmers and feed mill operators, agricultural producers, specialized commercial business operators and farm owners in seven Federal Districts of the Russian Federation in 2009-2019. Similar amounts of wheat and barley grain samples were received from the Central, Volga, Ural and Siberian Federal Districts. The amount of wheat samples delivered from the Southern Federal District prevailed over the number of barley samples, and the maize samples were mostly delivered from the regions of the Central Federal District. Fusarium toxins including T-2 toxin, diacetoxyscirpenol, deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins of group B as well as alternariol, ochratoxin A, citrinin, aflatoxin B1, sterigmatocystin, cyclopiazonic acid, mycophenolic acid, ergot alkaloids and emodin were detected and measured according to the validated competitive ELISA procedure. Generalization of the results demonstrated domination of fusarium toxins and active involvement of alternariol in the contamination of all types of feed grains as well as high occurrence of emodin in ear cereals and increased occurrence of T-2 toxin and ochratoxin A in barley. Shift of medians and 90%-percentile of the basic contaminants to lower values as compared to mean and maximal ones was reported thus being indicative of their possible accumulation at the levels outside the typical range. The highest levels of T-2 toxin, deoxynivalenol and ochratoxin A as well as 90%-percentile values exceeded the acceptable levels. The maize grains demonstrated the whole complex of the tested fusarium toxins with the prevalence of T-2 toxin, deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins; and the maximal amounts of these mycotoxins by several times exceeded the accepted regulatory levels. Diacetoxyscirpenol, aflatoxin B1, sterigmatocystin, cyclopiazonic acid and ergot alkaloids are classified as rare feed grain contaminants. High prevalence of alternariol and emodin known as "diarrhea factor" as well as maize grain contamination with mycophenolic acid (mycotoxin having an immunosuppressive effect) are for the first time reported in this paper. These data support the need of their introduction in the group of regulated substances significant for public health. Original monitoring data systematized and summarized in the paper are given in electronic format in section Additional materials.

Key words: wheat, barley, oat and maize grain, mycotoxins, monitoring, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

For citation: Kononenko G. P., Burkin A. A., Zotova Ye. V. Mycotoxilogical monitoring. Part 2. Wheat, barley, oat and maize grain. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 139–145. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-139-145.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

For correspondence: Galina P. Kononenko, Doctor of Science (Biology), Professor, Head of Laboratory for Mycotoxicology and Feed Hygiene, ARRIVSHE – Branch of the FSFSI FSC ARRIEVM RAS, 123022, Russia, Moscow, Zvenigorodskoe shosse, 5; *e-mail: kononenkogp@mail.ru.*

ВВЕДЕНИЕ

Загрязненность зерна токсичными метаболитами микроскопических грибов (микотоксинами) была и остается в центре внимания мировой сельскохозяйственной науки как ключевая проблема, определяющая ветеринарное благополучие [1, 2]. В нашей стране санитарное качество зернофуража имеет важное значение практически для всех животноводческих отраслей не только в связи со значительными масштабами его использования в комбикормовом производстве, но также из-за все возрастающего интереса к гидропонным кормам и новым технологиям его консервирования в условиях повышенной влажности. Для большинства видов продуктивных животных и птицы основу кормовых рационов составляют зерновые ингредиенты – зерно пшеницы, ячменя и кукурузы, а зерно овса традиционно представляет особую ценность для коневодства.

Обширное распространение фузариозного поражения зерновых культур, иногда приобретающего характер затяжных эпифитотий, многие годы вызывало повышенное внимание к рискам возникновения токсикозов животных [3]. В период с 1995 по 2005 г. была выполнена целевая государственная программа, направленная на оценку последствий пораженности зерна токсигенными грибами рода *Fusarium* с целью прогнозирования развития ситуации по территориям возделывания [4], и впервые получены сведения об особенностях распространения фузариотоксинов [5, 6]. Затем были инициированы региональные обследования и в отношении других санитарно-значимых микотоксинов [7]. Важным итогом предпринятых усилий стало введение в действие Технического регламента Таможенного союза «О безопасности зерна» (ТР ТС 015/2011) с допустимыми нормами их содержания в кормовом зерне [8].

Согласно данным мировой науки, перечень микотоксинов, способных вызывать хронические отравления животных и оказывать особо опасные формы повреждающего отдаленного действия на их организм, пока еще далеко не исчерпан, и совершенствование системы контроля безопасности зерна остается весьма актуальным. Все бóльшее число стран осознает необходимость регулярных мониторинговых исследований и функционирования на постоянной основе специализированных структур для координации действий и оперативной экспертной оценки полученных сведений. В нашей стране решение перспективной задачи по созданию национального информационного ресурса, направленной на снижение рисков микотоксикозов сельскохозяйственных животных, предполагает систематизацию аналитических исследований и представление данных в рамках единого подхода, сочетающего их всестороннюю оценку и доступность для пополнения и использования специалистами.

Цель данной работы – обобщение результатов обследования загрязненности микотоксинами фуражного и заготовляемого зерна пшеницы, ячменя, овса и кукурузы, направленного из субъектов 7 федеральных округов РФ в период с 2009 по 2019 г., с представлением исходных данных в учетной электронной базе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектами исследования были средние образцы от партий фуражного и заготовляемого зерна, предоставленные специалистами ветеринарных служб, животноводческих и комбикормовых предприятий, компаний-сельхозпроизводителей, специализированных коммерческих организаций и владельцами крестьянских фермерских хозяйств в 2009–2019 гг.

Для 623 образцов зерна пшеницы, ячменя и кукурузы документальное или ответственное подтверждение территории сбора имели 589 образцов, 30 предоставлены без данных о происхождении и 4 получены по импорту (табл. 1). Зерно овса в количестве 27 образцов поступило для анализа в основном из Тульской, Московской областей и Краснодарского края, а также из Брянской, Курской, Тюменской областей и Республики Саха (Якутия).

В группу определяемых микотоксинов входили Т-2 токсин (Т-2), диацетоксисцирпенол (ДАС), дезоксиниваленол (ДОН), зеараленон (ЗЕН), фумонизины группы В (ФУМ), альтернариол (АОЛ), охратоксин А (ОА), цитринин (ЦИТ), афлатоксин B_1 (AB_1), стеригматоцистин (СТЕ), циклопиазоновая кислота (ЦПК), микофеноловая кислота (МФК), эргоалкалоиды (ЭА) и эмодин (ЭМО). Пробоподготовку проводили в соответствии с унифицированной методикой, основанной на жидкостной экстракции и непрямом конкурентном иммуноферментном анализе, с официальным статусом [9]. Пределы измерений, определенные по 85%-му уровню связывания антител, составили 2 (AB_1), 3 (ЭА), 4 (Т-2, ОА, СТЕ), 20 (ЗЕН, АОЛ, ЦИТ, МФК, ЭМО) и 50 (ДАС, ДОН, ФУМ, ЦПК) мкг/кг. В учетной форме базы данных использовали кодирование по критериям – вид зерна (ПШ, ЯЧ, ОВ, КУК), регион (ФО и СУБЪЕКТ), учетный год (1–11), определяемые микотоксины. Для статистической обработки применяли программы Microsoft Excel 2016 и Statistica (версия 6) с вычислением процента встречаемости по соотношению n^+/n и трех показателей по положительным образцам – среднего арифметического, медианы и 90%-го процентиля.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как следует из данных, представленных в таблице 1, охват территорий сбора зерна в Центральном и Приволжском федеральных округах (ФО) был наибольшим, им заметно уступали Южный, Уральский и Сибирский ФО, а из Северо-Западного и Дальневосточного ФО образцы поступили лишь из двух субъектов по каждому. Общее число исследованных образцов зерна пшеницы, ячменя и кукурузы было вполне сопоставимым, но распределение по регионам – неоднородным. Для зерна пшеницы и ячменя сравнимые по объему выборки были получены только из Центрального, Приволжского, Уральского и Сибирского ФО, а из Южного ФО различались весьма значительно. Зерно кукурузы было предоставлено в основном субъектами Центрального ФО.

В зерне пшеницы выявлены все анализированные микотоксины, кроме ДАС и AB_1 (табл. 2). Чаще других обнаруживали Т-2 и ДОН, а также АОЛ и ЭМО, остальные встречались с частотой от 1,0 до 4,9%. Количества токсинов, как правило, варьировали в пределах двух порядков, только для ЗЕН диапазон изменчивости не превышал одного порядка. Для всех контаминантов отмечалось смещение медиан в сторону меньших значений по отношению к средним, то есть единообразие несимметричного распределения содержаний, при котором половина данных меньше остальных. Наибольшие количества превышали пороговые концентрации, вычисленные для 90% значений (90%-й процентиль), особенно значительно у Т-2, ДОН, АОЛ и ЭМО, что указывало на возможность их аномально высокого накопления на фоне типичной контаминации. Более того, для ДОН значение 90%-го процентиля в несколько раз превышали его допустимое содержание – 1000 мкг/кг [8]. Важно отметить, что при относительно редкой встречаемости предельные уровни ОА и ЦИТ, найденные в зерне, как и пороговые концентрации для 90% значений, были значительно выше рекомендованных нормативов [8, 10].

Таблица 1
Территории, с которых направлены средние образцы зерна пшеницы, ячменя, кукурузы (согласно документальным и ответственным подтверждениям, 2009–2019 гг.)

Table 1
Areas, from which representative samples of wheat, barley and maize grain were delivered (according to documented and official data, 2009–2019)

Федеральный округ (субъект) РФ	Число образцов		
	пшеница	ячмень	кукуруза
Центральный (Белгородская, Брянская, Воронежская, Калужская, Курская, Липецкая, Московская, Орловская, Рязанская, Тамбовская, Тульская, Ярославская области)	65	58	190
Приволжский (Кировская, Нижегородская, Оренбургская, Пензенская, Самарская, Саратовская, Ульяновская области, Республика Башкортостан, Республика Мордовия, Республика Татарстан)	41	29	2
Южный (Волгоградская, Ростовская области, Краснодарский край, Ставропольский край)	75	14	9
Уральский (Курганская, Свердловская, Тюменская, Челябинская области)	17	12	–
Сибирский (Иркутская, Новосибирская, Омская области, Алтайский край, Красноярский край)	44	26	–
Северо-Западный (Вологодская, Псковская области)	1	1	–
Дальневосточный (Амурская область, Приморский край)	2	1	2
Происхождение не указано	14	6	10
Получено по импорту	–	1	3
Всего	259	148	216

Таблица 2
Микотоксины в зерне пшеницы (обобщенные данные 2009–2019 гг.)

Table 2
Mycotoxins in wheat grain (summary data, 2009–2019)

Токсин	Встречаемость n^+/n (%)	Содержание, мкг/кг				
		диапазон		среднее значение	медиана	90%-й процентиль
		мин.	макс.			
Т-2	83/259 (32,0)	2	225	26	12	48
ДОН	62/259 (23,9)	40	7920	1092	550	3155
ДАС	0/74	–	–	–	–	–
ЗЕН	11/259 (4,2)	10	215	68	40	205
ФУМ	6/165 (3,6)	75	1990	478	150	1200
АОЛ	52/240 (21,7)	11	675	60	32	116
ОА	12/247 (4,9)	4	270	52	8	236
ЦИТ	8/163 (4,9)	24	1000	349	128	853
$АВ_1$	0/101	–	–	–	–	–
СТЕ	3/125 (2,4)	4	250	90	–	–
ЦПК	1/132 (1,0)	63	–	–	–	–
МФК	4/151 (2,6)	63	1255	602	545	1179
ЭА	4/121 (3,3)	6	144	43	10	105
ЭМО	56/126 (44,4)	5	706	118	60,5	301

n – число исследованных образцов (number of tested samples);
n^+ – число образцов, содержащих микотоксин (number of mycotoxin-containing samples).

В зерне ячменя наибольшие показатели встречаемости имели Т-2 и ЭМО, умеренные – ДОН, АОЛ и ОА, самые низкие – ЗЕН, ЦИТ, СТЕ, МФК, а ДАС, ФУМ, $АВ_1$ и ЦПК отсутствовали (табл. 3). Смещение медиан от средних значений к меньшим в два и более раз наблюдалось для всех контаминантов, за исключением АОЛ, а превышение наибольших количеств над пороговыми концентрациями, вычисленными для 90% значений (90%-й процентиль), – у всех, кроме ЭА. При высокой частоте контаминации Т-2 показатель 90%-го процентиля совпадал с границей допустимых содержаний, а наибольшее количество превышало его более чем в 6 раз. Для ДОН и ОА, уступающих по встречаемости, сравнение обоих показателей указывало на реальную возможность сверхнормативной контаминации этого зерна [8]. Более высокая распространенность Т-2 в зерне ячменя по сравнению с зерном пшеницы, а также соответствие показателей встречаемости ДОН и ЗЕН подтверждают данные, описанные ранее [11]. О более выраженной контаминации ОА зерна ячменя (20,4%) в сравнении с зерном пшеницы (4,9%) сообщается впервые.

При анализе 27 образцов зерна овса ДАС, ЗЕН, ФУМ, $АВ_1$ и ЦПК детектировать не удалось; ОА, ЦИТ, СТЕ, МФК, ЭА были определены в единичных образцах; остальные микотоксины по частоте встречаемости располагались в ряд Т-2 > ЭМО > ДОН > АОЛ (см. рисунок). Предельные количества Т-2 и ДОН, найденные в зерне овса, превышали действующие нормативы [8].

Несмотря на малую выборку и нерегулярное обследование этого зерна по годам, полученные сведения могут быть полезны для комплексного научного проекта, направленного на изучение зараженности овса токсигенными грибами в регионах интенсивного возделывания этой культуры, в частности в северном Нечерноземье, Приволжском ФО и на других территориях [12, 13]. Кроме того, они представляют несомненную ценность для коневодства, в котором его активно используют из-за высокой питательности и содержания биологически активных веществ, оказывающих стимулирующий эффект на поведенческие реакции лошадей. Ранее при пробной оценке нескольких образцов, предоставленных конно-спортивными комплексами и племенными хозяйствами, также была выявлена обширная контаминация Т-2, умеренная – ДОН и АОЛ и редкая – ЗЕН [12].

В зерне кукурузы группа контаминантов оказалась наиболее обширной по составу и не включала только СТЕ. Комплекс анализированных фузариотоксинов представлен полностью с высокой частотой встречаемости Т-2, ДОН и ФУМ и меньшими показателями для ЗЕН и ДАС (табл. 4). Значения наибольших содержаний Т-2, ДОН, ФУМ и ЗЕН в несколько раз превышали уровни их нормирования. Данные о доминирующей роли этих микотоксинов согласуются с ранее сделанным заключением [14] и подтверждают обоснованность их введения в перечень регламентации для зерна кукурузы, поставляемого на кормовые цели [8]. Среди других анализированных метаболитов грибов следует отметить заметный вклад АОЛ и МФК с частотой встречаемости 13,3 и 8,6% и максимальными уровнями 295 и 397 мкг/кг соответственно. Микотоксины ОА, ЦИТ и ЭМО выявляли редко,

Таблица 3
Микотоксины в зерне ячменя (обобщенные данные 2009–2019 гг.)

Table 3
Mycotoxins in barley grain (summary data, 2009–2019)

Токсин	Встречаемость n^+/n (%)	Содержание, мкг/кг				
		диапазон		среднее значение	медиана	90%-й процентиль
		мин.	макс.			
Т-2	105/148 (70,9)	4	660	48	25	100
ДОН	35/148 (23,6)	50	7060	654	130	2380
ДАС	0/60	–	–	–	–	–
ЗЕН	2/148 (1,4)	100	1250	675	–	–
ФУМ	0/67	–	–	–	–	–
АОЛ	29/137 (21,2)	5	397	85	71	141
ОА	29/142 (20,4)	4	250	23	5	71
ЦИТ	5/137 (3,6)	30	1120	300	146	734
$АВ_1$	0/69	–	–	–	–	–
СТЕ	2/107 (1,9)	10	40	25	–	–
ЦПК	0/92	–	–	–	–	–
МФК	1/106 (1,0)	334	–	–	–	–
ЭА	4/94 (4,3)	5	164	49	14	120
ЭМО	68/94 (72,3)	13	1400	205	101	495

n – число исследованных образцов (number of tested samples);
n^+ – число образцов, содержащих микотоксин (number of mycotoxin-containing samples).

в содержаниях не более 50 мкг/кг, а $АВ_1$, ЦПК и ЭА – лишь в единичных случаях.

Обобщение и подробный анализ результатов исследования контаминации санитарно-значимыми микотоксинами зерна пшеницы, ячменя, овса и кукурузы в период с 2009 по 2019 г. проведены в этой работе впервые. Для зерна кукурузы получено подтверждение доминирующей роли фузариотоксинов с возможностью высоких уровней накопления, а также факта сочетанной контаминации с участием всех компонентов этого комплекса. Установлена значительная распространенность ЭМО в зерне колосовых культур, которая, по-видимому, является основным источником его попадания в комбикорма (см. сообщение 1). Роль этого вторичного метаболита в растениях пока не совсем ясна и активно обсуждается в научной литературе [15]. К числу санитарно-значимых для всех видов зернофуража отнесен АОЛ, токсин с генотоксическим действием, а для зерна кукурузы – МФК, известная как высокоактивный иммунодепрессант.

Исходные данные мониторинга с указанием региона, территории и дат сбора образцов представлены в электронном виде в разделе «Дополнительные материалы» по адресу: http://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-2-33-139-145. Возможность пополнения и доступность такой базы позволяет проводить любые варианты выборочной обработки, в том числе по видам зерна, раздельной и сочетанной встречаемости микотоксинов, а также по региональному и территориальному признаку. В последние годы отмечены частые случаи совместного обнаружения ДОН и ЗЕН в зерне пшеницы [11], а также Т-2 совместно с ДАС в зерне кукурузы [14]. Сведения, полученные для конкретных территорий, открывают уникальную возможность прогнозирования рисков контаминации в конкретных ареалах с учетом почвенно-климатических и хозяйственных факторов, способных определять микотоксикологическую ситуацию из-за влияния на условия роста, конкурентные взаимодействия и токсинообразование микроскопических грибов [16–18].

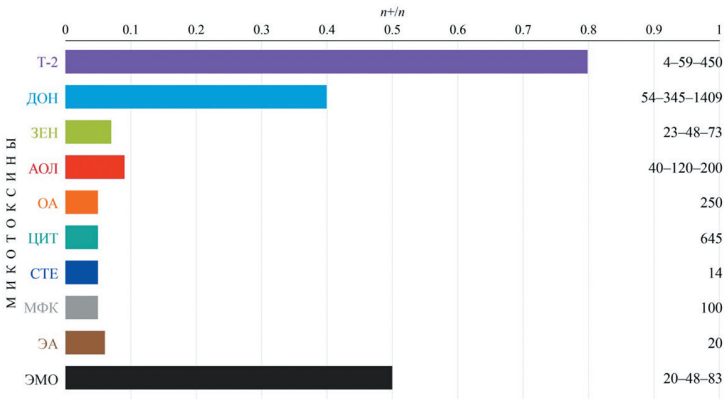


Рис. Встречаемость (n^+/n) и содержание микотоксинов (мкг/кг, мин. – среднее – макс.) в зерне овса (обобщенные данные)

Fig. Mycotoxin occurrence (n^+/n) and content (μg/kg, min – mean - max) in oat grain (summarized data)

Таблица 4
Микотоксины в зерне кукурузы (обобщенные данные 2009–2019 гг.)

Table 4
Mycotoxins in maize grain (summarized data, 2009–2019)

Токсин	Встречаемость n^+/n (%)	Содержание, мкг/кг				
		диапазон		среднее значение	медиана	90%-й процентиль
		мин.	макс.			
Т-2	203/216 (94,0)	2	1040	151	120	310
ДОН	154/216 (71,3)	50	6590	740	382,5	1963
ДАС	10/59 (17,0)	50	250	122	92,5	205
ЗЕН	50/216 (23,2)	20	4455	345	55,5	674
ФУМ	167/216 (77,3)	50	15 800	1334	500	3152
АОЛ	21/158 (13,3)	20	295	71	57	140
ОА	4/164 (2,4)	5	16	10	–	–
ЦИТ	3/141 (2,1)	20	40	27	–	–
$АВ_1$	1/113 (1,0)	16	–	–	–	–
СТЕ	0/112	–	–	–	–	–
ЦПК	1/75 (1,3)	126	–	–	–	–
МФК	8/93 (8,6)	25	397	158	100	345
ЭА	1/67 (1,5)	6	–	–	–	–
ЭМО	2/74 (2,7)	25	45	35	–	–

n – число исследованных образцов (number of tested samples);
n^+ – число образцов, содержащих микотоксин (number of mycotoxin-containing samples).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе обширного мониторинга, проведенного в режиме ежегодного сбора данных за 2009–2019 гг., установлены общие черты и особенности контаминации микотоксинами зерна пшеницы, ячменя, овса и кукурузы. Полученные результаты подтвердили актуальность регулярной оценки его загрязненности фузариотоксинами и охратоксином А. Для зерна рекомендовано расширение перечня санитарно-значимых показателей введением в их число эмодина, токсина антрахинонового ряда, известного как «диарейный фактор», а также альтернариола, цитринина и микофеноловой кислоты с особо опасными формами токсического действия и негативными отдаленными последствиями. Полученная информация может быть востребована для оценки общей ситуации в сфере агропроизводства, обоснования критериев регламентации микотоксинов в зерне и совершенствования системы контроля зернопродукции.

Дополнительные материалы к этой статье (учетные формы с базой данных) можно найти по адресу: http://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-2-33-139-145.

Additional materials to the paper (records forms with database) can be found at: http://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-2-33-139-145.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 2, 15, 16, 18 см. REFERENCES)

1. Микотоксины и микотоксикозы. Под ред. Д. Диаза. М.: Печатный город; 2006. 382 с.

3. Леонов А. Н., Малиновская Л. С., Соболева Н. А., Кононенко Г. П., Зелкова Н. Г. Совершенствование ветеринарно-санитарных мер по профилактике фузариотоксикозов у сельскохозяйственных животных. *Вестник сельскохозяйственной науки*. 1990; 10: 73–78.

4. Кононенко Г. П., Буркин А. А., Соболева Н. А. Потенциал токсинообразования основных возбудителей фузариоза колоса. *Успехи медицинской микологии* (*Материалы II Всероссийского конгресса по медицинской микологии*). М.: Национальная академия микологии; 2004; 3: 266–269. eLIBRARY ID: 25485175.

5. Кононенко Г. П., Буркин А. А. О контаминации фузариотоксинами зерна злаков, используемых на кормовые цели. *Сельскохозяйственная биология*. 2009; 4: 81–88. Режим доступа: http://www.agrobiology.ru/4-2009kononenko.html.

6. Кононенко Г. П., Буркин А. А. Контаминация фузариотоксинами зерна кукурузы и риса на основных территориях возделывания культур в Российской Федерации. *Сельскохозяйственная биология*. 2008; 5: 88–91. Режим доступа: http://www.agrobiology.ru/5-2008kononenko.html.

7. Буркин А. А., Кононенко Г. П., Соболева Н. А. Контаминация зерновых кормов охратоксином А. *Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук*. 2005; 2: 47–49. eLIBRARY ID: 18006839.

8. ТР ТС 015/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности зерна» (с изменениями на 15 сентября 2017 года): утв. решением Комиссии Таможенного союза от 09.12.2011. № 874. Режим доступа: http://docs.cntd.ru/document/902320395.

9. ГОСТ 31653-2012 Корма. Метод иммуноферментного определения микотоксинов. М.: Стандартинформ; 2012. 11 с.

10. Рекомендации по микотоксикологическому контролю кормов для сельскохозяйственных животных: утв. Минсельхозом России № 25/3098 13.10.2014.

11. Кононенко Г. П., Буркин А. А., Зотова Е. В., Устюжанина М. И., Смирнов А. М. Особенности контаминации зерна пшеницы и ячменя фузариотоксинами. *Российская сельскохозяйственная наука*. 2018; 1: 17–21. eLIBRARY ID: 35259100. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_35259100_14251382.pdf.

12. Гаврилова О. П., Гагкаева Т. Ю., Буркин А. А., Кононенко Г. П. Зараженность грибами рода *Fusarium* и контаминация микотоксинами зерна овса и ячменя на севере Нечерноземья. *Сельскохозяйственная биология*. 2009; 6: 89–93. Режим доступа: http://www.agrobiology.ru/6-2009gavrilova.html.

13. Буркин А. А., Кононенко Г. П., Гаврилова О. П., Гагкаева Т. Ю. Микотоксикологическое обследование зерна овса и продуктов его переработки. *Современная микология в России: материалы III Международного микологического форума (14–15 апреля 2015 г.)*. Под ред. Ю. Т. Дьякова, Ю. В. Сергеева. М.: Нац. акад. микол.; 2015; 5: 221–223. Режим доступа: http://www.mycology.ru/files/cmr2015vol5.pdf.

14. Кононенко Г. П., Буркин А. А., Зотова Е. В., Смирнов А. М. Микотоксикологическое исследование кормового зерна кукурузы (1998–2018 гг.). *Российская сельскохозяйственная наука*. 2019; 3: 28–31. DOI: 10.31857/S2500-26272019328-31.

17. Омельченко М. Д., Жердев А. В., Николаев И. В., Жалиева Л. Д., Буханистая Г. Ф., Баттилани П., Дзантиев Б. Б. Оценка влияния агротехнических и метеорологических факторов на загрязнение зерна фузариотоксинами в агроценозах пшеницы из разных климатических зон РФ. *Аграрная Россия*. 2013; 1: 2–9. DOI: 10.30906/1999-5636-2013-1-2-9.

REFERENCES

1. Mycotoxins and mycotoxicoses [Mikotoksiny i mikotoksikozy]. Ed. by D. Diaz. M.: Pechatny Gorod; 2006. 382 p. (in Russian)

2. Kotowicz N. K., Frąc M., Lipiec J. The importance of *Fusarium* fungi in wheat cultivation – pathogenicity and mycotoxin production: A review. *J. Anim. Plant Sci.* 2014; 21 (2): 3326–3343. Available at: http://www.m.elewa.org/JAPS/2014/21.2/3BLOCKED.pdf.

3. Leonov A. N., Malinovskaya L. S., Sobolova N. A., Kononenko G. P., Zelkova N. G. Improvement of veterinary and sanitary measures for the prevention of fusariotoxicosis in farm animals [Sovershenstvovanie veterinarno-sanitarnyh mer po profilaktike fuzariotoksikozov u sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh]. *Vestnik sel'skohozyajstvennoj nauki*. 1990; 10: 73–78. (in Russian)

4. Kononenko G.P., Burkin A.A., Soboleva N.A. Toxin production potential of the main causal agents of fusarium head blight [Potencial toksinoobrazovaniya osnovnyh vozbuditelej fuzarioza kolosa]. *Advances in Medical Mycology (Proceedings of the II All-Russia Congress on medical mycology)*. M: National Academy of Mycology; 2004; 3: 266–269. eLIBRARY ID: 25485175. (in Russian)

5. Kononenko G. P., Burkin A. A. About fusariotoxins contamination of cereals used for fodder. *Agricultural Biology* [*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*]. 2009; 4: 81–88. Available at: http://www.agrobiology.ru/4-2009kononenko.html. (in Russian)

6. Kononenko G. P., Burkin A. A. Fusariotoxins content in maize and rice grain harvested in the main regions of cultivation in the Russian Federation. *Agricultural Biology* [*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*]. 2008; 5: 88–91. Available at: http://www.agrobiology.ru/5-2008kononenko.html. (in Russian)

7. Burkin A. A., Kononenko G. P., Soboleva N. A. Contamination of grain feeds ochratoxin A. *Russ. Agricult. Sci.* 2005; 2: 47–49. eLIBRARY ID: 18006839. (in Russian)

8. TR CU 015/2011 Technical Regulation of the Customs Union on Safety of Grain (as amended on September 15, 2017): approved by the Customs Union Decision No. 874 of 9 December 2011. Available at: http://docs.cntd.ru/document/902320395. (in Russian)

9. GOST 31653-2012 Feed. Immunoenzyme method for mycotoxin detection. M.: Standardinform; 2012. 11 p. (in Russian)

10. Recommendations on mycotoxicological control of feed for livestock animals [Rekomendacii po mikotoksikologicheskomu kontrolyu kormov dlya sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh]: approved by the Ministry of Agriculture of the Russian Federation No. 25/3098 of 13 October 2014. (in Russian)

11. Kononenko G. P., Burkin A. A., Zotova E. V., Ustyuzhanina M. I., Smirnov A. M. Features of wheat and barley grain contamination with fusariotoxins. *Russ. Agricult. Sci*. 2018; 44: 137–141. DOI: 10.3103/S106836741802009X.

12. Gavrilova O. P., Gagkaeva T. Yu., Burkin A. A., Kononenko G. P. Mycological infection by *Fusarium* strains and mycotoxins contamination of oats and barley in the north of Nonchernozem'e. *Agricultural Biology* [*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*]. 2009; 6: 89–93. Available at: http://www.agrobiology.ru/6-2009gavrilova.html. (in Russian)

13. Burkin A. A., Kononenko G. P. Gavrilova O. P., Gagkaeva T. Yu. Mycotoxicological survey of oat and its processed products [Mikotoksikologicheskoe obsledovanie zerna ovsa i produktov ego pererabotki]. *Current Mycology in Russia: Proceeding of the III International Mycological Forum (April 14–15, 2015)*. Ed. By Yu. T. Dyakov, Yu. V. Sergeyev. M.: National Academy of Mycology; 2015; 5: 221–223. Available at: http://www.mycology.ru/files/cmr2015vol5.pdf. (in Russian)

14. Kononenko G. P., Burkin A. A., Zotova E. V., Smirnov A. M. Mycotoxicological study of feed corn grain (1998–2018). *Russ. Agricult. Sci*. 2019; 3: 28–31. DOI: 10.31857/S2500-26272019328-31. (in Russian)

15. Izhaki I. Emodin – a secondary metabolite with multiple ecological functions in higher plants. *New Phytologist*. 2002; 155 (2): 205-217. DOI: 10.1046/j.1469-8137.2002.00459.x.

16. Grenier B., Oswald I. P. Mycotoxin co-contamination of food and feed: Meta-analysis of publication describing toxicological interactions. *World Mycotoxin J*. 2011; 4 (3): 285–313. DOI: 10.3920/WMJ2011.1281.

17. Omelchenko M. D., Zherdev A. V., Nikolaev I. V., Zhalieva L. D., Buhanistaya G. F., Battilani P., Dzantiev B. B. Assessment of the influence of agricultural and meteorological factors on contamination of grain by fusariotoxins in wheat agrocenoses from different climatic zones of the Russian Federation. *Agrarnaya Rossiya*. 2013; 1: 2–9. DOI: 10.30906/1999-5636-2013-1-2-9. (in Russian)

18. Vogelgsang S., Musa T., Bänziger I., Kägi A., Bucheli T. D., Wettstein F. E., et al. *Fusarium* mycotoxins in Swiss wheat: A survey of grower's samples between 2007 and 2014 shows strong year and minor geographic effects. *Toxins*. 2017; 9 (8):246. DOI: 10.3390/toxins9080246.

Поступила 27.04.2020
Принята в печать 19.05.2020

Received on 27.04.2020
Approved for publication on 19.05.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Кононенко Галина Пантелеевна, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией микотоксикологии и санитарии кормов ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, Россия.

Буркин Алексей Анатольевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, Россия.

Зотова Елена Владимировна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник ВНИИВСГЭ – филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, Россия.

Galina P. Kononenko, Doctor of Science (Biology), Professor, Head of Laboratory for Mycotoxicology and Feed Hygiene, ARRIVSHE – Branch of the FSFSI FSC ARRIEVM RAS, Moscow, Russia.

Alexey A. Burkin, Candidate of Science (Medicine), Leading Researcher, ARRIVSHE – Branch of the FSFSI FSC ARRIEVM RAS, Moscow, Russia.

Yelena V. Zotova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, ARRIVSHE – Branch of the FSFSI FSC ARRIEVM RAS, Moscow, Russia.

DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-146-147

Рецензия на монографию В. В. Макарова, Н. Я. Махамата, А. М. Гулюкина, М. И. Гулюкина «Сибирская язва: современное представление и мировое распространение».

М.: Агентство творческих технологий, 2019. 145 с.: ил. ISBN 978-5-6042239-6-3

С. В. Шабунин

Доктор ветеринарных наук, профессор, академик РАН, директор ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия

А. Г. Шахов

Доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия

Для цитирования: Шабунин С. В., Шахов А. Г. Рецензия на монографию В. В. Макарова, Н. Я. Махамата, А. М. Гулюкина, М. И. Гулюкина «Сибирская язва: современное представление и мировое распространение». М.: Агентство творческих технологий, 2019. 145 с.: ил. ISBN 978-5-6042239-6-3. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 146–147. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-146-147.

Peer-review of monograph of V. V. Makarov, N. Ya. Makhamat, A. M. Gulyukin, M. I. Gulyukin “Anthrax: Modern Knowledge and Global Occurrence”.

M.: Agentstvo tvorcheskikh tekhnologiy, 2019. 145 p.: il. ISBN 978-5-6042239-6-3

S. V. Shabunin

Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the FGBSI “All-Russia Research Institute of Veterinary Pathology, Pharmacology and Therapy”, Voronezh, Russia

A. G. Shakhov

Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher of the FGBSI “All-Russia Research Institute of Veterinary Pathology, Pharmacology and Therapy”, Voronezh, Russia

For citation: Shabunin S. V., Shakhov A. G. Peer-review of monograph of V. V. Makarov, N. Ya. Makhamat, A. M. Gulyukin, M. I. Gulyukin “Anthrax: Modern Knowledge and Global Occurrence”. M.: Agentstvo tvorcheskikh tekhnologiy, 2019. 145 p.: il. ISBN 978-5-6042239-6-3. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 146–147. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-146-147.

Предлагаемая вниманию читателей монография посвящена одной из злободневных проблем эпизоотологии и эпидемиологии – сибирской язве.

Необходимость ее издания обусловлена практически полным отсутствием сведений относительно эпизоотических особенностей мирового нозоареала сибирской язвы животных, пригодной для эколого-эпизоотологического моделирования и прогнозирования.

В представленном во введении анализе полуторавековой деятельности ветеринарии и медицины в области борьбы с сибирской язвой в России и мире показаны безусловные и впечатляющие успехи в решении этой проблемы. Вместе с тем авторы монографии вполне обоснованно отмечают ряд достаточно не решенных вопросов дальнейшей стратегии контроля сибирской язвы, прогностики, моделирования, экологии возбудителя, обусловленных очевидной сапрозоонозной природой инфекции.

Важный раздел монографии – «Современные представления о сибирской язве», в котором авторы приводят общие сведения об инфекции, ее возбудителе, существующем в двух альтернативных формах (вегетативной в организме больного животного и споровой – вне его), определяющих соответственно инфекционный и эпизоотический процессы. В разделе показаны первые выдающиеся достижения в области специфической профилактики заболевания, а также экологические аспекты сибиреязвенной инфекции, пути заражения животных и человека, влияние ландшафтно-климатических факторов на продолжительность существования спор в почве, являющейся скрытым источником инфекции, степень восприим-

чивости животных к заболеванию. Авторы обращают внимание на преимущественное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение заболеваемости продуктивных травоядных пастбищных животных – крупного и мелкого рогатого скота.

В разделе также дана информация о различных формах течения сибирской язвы у человека, которые определяются способами заражения и проявляются преимущественно кожной (локальной) при поверхностной аппликации возбудителя, ингаляционной и кишечной (генерализованные). Показана зависимость заболеваемости людей от уровня эпизоотического неблагополучия для каждой отдельной страны с учетом данных о поголовье восприимчивых животных, эпизоотических, эпидемических и экологических кофакторов.

Несомненный интерес представляют материалы, изложенные во втором разделе «Ветеринарная эпидемиология сибирской язвы. Состояние вопроса». Принимая во внимание важность этой проблематики, авторы монографии проанализировали случаи и эпизоотические вспышки сибирской язвы животных за последние 40–50 лет во многих странах мира, а также оценили текущую эпизоотическую и эпидемическую ситуацию в РФ и мире по материалам современных публикаций, обратив особое внимание на эмерджентное возникновение и последствия массовой заболеваемости животных сибирской язвой в Ямало-Ненецком автономном округе в 2016 г. В разделе приведена также информация о возможности и случаях использования возбудителя сибирской язвы в террористических целях.

На основании собственных исследований в третьем разделе монографии представлен ветеринарно-эпидемиологический паттерн мирового распространения сибирской язвы на современном этапе (2007–2017 гг.). Исследования проведены в формате систематического обзора в соответствии с общими требованиями доказательной медицины, принципами и методами эпизоотологического анализа и доказательной эпизоотологии, при этом использованы наиболее полные международные информационные базы данных эпизоотологического направления (ProMED и WAHIS) с тотальным охватом сообщений относительно сибирской язвы животных и человека, общепринятые методические элементы количественной, графической эпидемиологии, биометрии и статистических обработок.

На основании проведенных исследований дана сравнительная оценка интенсивности эпизоотического и эпидемиологического процессов в неблагополучных по сибирской язве странах Африки (16 стран), Азии и Ближнего Востока (14), Европы (18), в Австралии, Канаде, США, Аргентине, Колумбии, Перу, Уругвае, на Гаити.

Представлена многолетняя и внутригодовая динамика вспышек сибирской язвы крупного рогатого скота в Республике Чад с 2010 по 2015 г.

В неблагополучных странах дана характеристика восприимчивости животных, заболеваемости человека как индикатору эпизоотического неблагополучия и факторам риска, сезонности и очаговости как основных признаков эпизоотического процесса сибирской язвы.

Большой интерес представляют многочисленные, прекрасно выполненные иллюстрации по истории сибирской язвы, мировому нозоареалу инфекции в XXI веке, инфекционному циклу заболевания, смертности животных разных видов в мире в 2007–2017 гг., кожной форме сибирской язвы у человека, заболеваемости, смертности, летальности людей при сибирской язве и различным контактам с инфицированными материалами и другой информации.

В эпилоге, посвященном итоговой интерпретации изложенного материала, авторы монографии дают четкую характеристику сибирской язвы как типичного природно-очагового нетрансмиссивного сапрозооноза с почвенной локализацией резервуара и источника заражения для млекопитающих, имеющих естественные контакты с почвой.

Список литературы включает избранные публикации, главным образом первоисточники, имеющие отношение к вопросам ветеринарной эпидемиологии и нозогеографии сибирской язвы.

Несомненным достоинством монографии «Сибирская язва: современное представление и мировое распространение» является то, что авторы сумели показать всю важность этой проблемы.

Монография представляет большой интерес для широкого круга читателей, специалистов, занимающихся вопросами инфекционной патологии и эпизоотологии. Она будет полезна студентам, аспирантам, преподавателям, слушателям ФПК ветеринарных вузов, практическим ветеринарным и медицинским специалистам.

Памяти Бурдова Александра Николаевича

В марте 2020 г. на 94-м году жизни после продолжительной болезни скончался Бурдов Александр Николаевич – доктор ветеринарных наук, профессор, заслуженный деятель науки РСФСР, участник Великой Отечественной войны, 11 лет (с 1981 по 1992 г.) проработавший директором Всесоюзного научно-исследовательского ящурного института (ныне ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

А. Н. Бурдов родился 15 сентября 1926 г. в селе Вязовка Майнского района Ульяновской области. В 1945 г., будучи курсантом военного училища, был отправлен на Дальний Восток, где участвовал в боях с Японией. В 1946 г. после демобилизации из армии поступил учиться в Киевский ветеринарный институт. После окончания института в 1951 г. А. Н. Бурдов по направлению МСХ СССР работал в Казахской ССР заведующим зооветеринарным участком, старшим ветеринарным врачом МТС, заведующим районной ветеринарной лабораторией.

В 1959–1962 гг. обучался в очной аспирантуре при Всесоюзном институте экспериментальной ветеринарии, после окончания которой был принят на должность главного ветеринарного врача Главного управления ветеринарии МСХ СССР. В 1963 г. защитил кандидатскую диссертацию.

В апреле 1964 г. А. Н. Бурдов был выдвинут на должность директора Научно-исследовательского сельскохозяйственного института МСХ СССР (Казахская ССР), где под его руководством коллектив сотрудников выполнил и внедрил в ветеринарную практику ряд разработок, имеющих важное народно-хозяйственное значение. В 1971 г. во ВНИИВВиМ (г. Покров) А. Н. Бурдов защитил докторскую диссертацию. В 1972 г. он был назначен начальником отдела в Главном управлении научно-исследовательских и экспериментально-производственных учреждений МСХ СССР. В 1978 г. направлен на работу директором научной ветеринарной лаборатории МСХ СССР в Народную Республику Конго, а затем, в 1981 г., назначен на должность директора Всесоюзного научно-исследовательского ящурного института, который он возглавлял до 1992 г.

Александр Николаевич Бурдов – высококвалифицированный специалист в области ветеринарной вирусологии и эпизоотологии особо опасных болезней животных, им опубликовано 150 научных работ, получено 6 патентов на изобретения. Изданная под редакцией А. Н. Бурдова монография «Ящур» (1990 г.) обобщила богатый отечественный и мировой опыт борьбы с этим заболеванием.

Под его научным руководством осуществлены работы, связанные с получением новых препаратов, средств и методов защиты животных от карантинных и малоизвестных болезней. Особенно значителен его вклад в развитие крупномасштабного культивирования клеток и вируса ящура. На этой основе была разработана

отечественная технология получения культуральной противоящурной вакцины, а также принципиально новые технологии вакцин на основе рекомбинантных ДНК и химического синтеза.

Под руководством Александра Николаевича подготовлено 12 кандидатов наук. Он вел активную научно-общественную работу, являлся председателем специализированного совета ВНИЯИ по защите кандидатских диссертаций, членом специализированного совета ВНИИВВиМ по защите докторских диссертаций, научно-технического совета Госагропрома СССР, руководителем координационного центра по ящуру стран – членов СЭВ.

За развитие ветеринарной науки и подготовку высококвалифицированных кадров А. Н. Бурдову в 1990 г. присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки РСФСР».

А. Н. Бурдов награжден орденами Октябрьской Революции, Отечественной войны II степени, Дружбы народов, двумя орденами Трудового Красного Знамени и многими медалями.

С 1992 г. А. Н. Бурдов находился на заслуженном отдыхе.

Александр Николаевич обладал широкой научной эрудицией, высокой работоспособностью, всегда проявлял профессиональную творческую инициативу, принципиальность. Все это снискало ему заслуженный авторитет, уважение и широкую известность как в нашей стране, так и за рубежом. Таким он останется в памяти коллег и друзей.

Администрация,
профсоюзный комитет,
сотрудники ФГБУ «ВНИИЗЖ»

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 материла 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 авторов, место работы авторов, город, страна, ORCID ID, адрес электронной почты.
4. **Резюме** (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы): 200–250 слов, но не более 2000 знаков.
5. **Ключевые слова** (5-6 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи.
6. **Благодарности** (при наличии данных о благодарности людям и финансировании исследований).
7. **Для цитирования**
8. **Конфликт интересов**
9. **Для корреспонденции** (фамилия, имя, отчество (полностью), ученая степень, научное звание, должность, адрес, электронная почта).
10. **Введение**
11. **Материалы и методы**
12. **Результаты и обсуждение**
13. **Выводы или заключение**
14. **Список литературы** (**ванкуверский стиль** – расположение источников в порядке их цитирования (появления в тексте)).
15. **Информация об авторах** (фамилия, имя, отчество (полностью), ученая степень, научное звание, должность, город, страна).
16. К размещению принимаются иллюстрированные материалы (фото, графики) 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 умещаться 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: Никешина Татьяна Борисовна, *e-mail: nikeshina@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 "ARRIAH")

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 ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») в области борьбы с болезнями птиц являются разработка и внедрение в ветеринарную практику высокоэффективных лечебно-профилактических препаратов против болезней птиц, диагностических систем и методов.

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)
Производит вакцины против:
болезни Гамборо, ньюкаслской болезни, бронхита кур, болезни Марека, синдрома снижения яйценоскости-76, инфекционного ларинготрахеита, инфекционного энцефаломиелита, реовирусного теносиновита, гидроперикардита, микоплазмоза, оспы, гепатита утят, метапневмовирусной инфекции птиц и т. д.

Проводит диагностические исследования:

• Определение антител в ИФА с использованием тест-систем отечественного и импортного производства.

• Индикация в полимеразной цепной реакции (ПЦР) геномов вирусов и бактерий:
– инфекционного бронхита кур;
– инфекционной бурсальной болезни;
– инфекционного энцефаломиелита;
– инфекционного ларинготрахеита;
– синдрома снижения яйценоскости-76;
– болезни Марека;
– ньюкаслской болезни;
– реовирусного теносиновита;
– аденовирусной инфекции;
– метапневмовирусной инфекции;
– гриппа птиц;
– анемии птиц;
– гепатита уток;
– энтерита гусей;
– оспы;
– *Mycoplasma gallisepticum*;
– *Mycoplasma synoviae*;
– *Mycoplasma meleagridis*.

• Идентификация с помощью секвенирования геномов вирусов инфекционной бурсальной болезни, инфекционного бронхита кур, ньюкаслской болезни, энцефаломиелита, реовируса и др.

• Бактериологические исследования: гемофилез, орнитобактериоз, сальмонеллез, пастереллез и др.

Для удовлетворения потребности отечественных ветеринарных лабораторий в средствах диагностики гриппа птиц в подведомственном Россельхознадзору ФГБУ «ВНИИЗЖ» начато производство набора для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H9 в реакции торможения гемагглютинации. Набор успешно прошел апробацию, в ходе которой была показана его высокая специфичность и чувствительность.

Разработка набора проводилась в референтной лаборатории вирусных болезней птиц на основе актуального штамма вируса A/H9, антигенно родственного выявленным на территории Российской Федерации изолятам. С помощью данного набора можно определить уровень антител к вирусу гриппа птиц подтипа H9 в сыворотках крови как домашних, так и диких птиц.

Применение данного набора позволит выявлять постинфекционные антитела в соответствии с «Ветеринарными правилами лабораторной диагностики гриппа А птиц (от 03.04.2006 № 105)» и анализировать эффективность применения средств специфической профилактики низкопатогенного гриппа птиц.

Инструкция к набору для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H9 в реакции торможения гемагглютинации доступна на сайте ФГБУ «ВНИИЗЖ» в разделе «Продукция и услуги».

По вопросам приобретения ветеринарных препаратов и диагностических наборов производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» обращаться по телефонам:
8 (4922) 52-99-24, (4922) 26-15-25