



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

РУССКО-АНГЛИЙСКИЙ
ЖУРНАЛ

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

VETERINARY SCIENCE TODAY

МАРТ | MARCH

№1 [36] 2021

RUSSIAN-ENGLISH JOURNAL

ГОД НАУКИ И ТЕХНОЛОГИЙ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Проблемы и перспективы серологической диагностики
туберкулеза крупного рогатого скота

стр. 33

Роль респираторно-синцитиального вируса крупного
рогатого скота в этиологии респираторных болезней
на молочных комплексах

стр. 38

Эффективность вакцин против
ньюкаслской болезни производства
ФГБУ «ВНИИЗЖ» в отношении
актуальных вирусов VII генотипа

стр. 44

Эпизоотическая ситуация
по цестодовой инвазии домашних
северных оленей в оленеводческих
хозяйствах Мурманской области

стр. 52

Индикация биопленок
микроорганизмов
при болезнях органов
пищеварения ягнят

стр. 59



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

МАРТ | MARCH

№1 [36] 2021

RUSSIAN-ENGLISH JOURNAL

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)

Главный редактор: Метлин Артем Евгеньевич, доктор ветеринарных наук, заместитель директора по НИР и качеству ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: metlin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-4283-0171
тел.: 8 (4922) 26-09-18

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

Выпускающий редактор: 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

Фото на обложке: Александр Плоский

Editor-in-Chief: Artem Ye. Metlin, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research and Quality, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: metlin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-4283-0171
Tel.: 8 (4922) 26-09-18

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 Editor: 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

Cover photo: Alexandr Plonskiy

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

Готов А. Г. — доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБНУ «Сибирский федеральный научный центр агроботанических наук», 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

Кузьмина 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

Ломанко Ю. В. — кандидат ветеринарных наук, доцент, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеслесского», 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. Vysheslisky, Minsk, Belarus; ORCID ID 0000-0002-9611-8286

Natalia V. Mishchenko — 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

Редактор-координатор: Анастасия Мазнева

Редакторы-корректоры ФГБУ «ВНИИЗЖ»:

Елена Гусева, Юлия Нурмухамбетова-Михайлова

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

Coordinating Editor: Anastasia Mazneva

Content editors of FGBI "ARRIAH":

Elena Guseva, Julia Nurmukhambetova-Mikhailova

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, 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

Кононов А. В. — кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по НИР и развитию, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-5523-3261

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

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

Пронин В. В. — доктор биологических наук, профессор, руководитель центра доклинических исследований, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-6240-3062

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, г. Нижний Новгород, Россия; ORCID ID 0000-0003-1085-220X

Старов С. К. — кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник, ведущий эксперт 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, 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

Alexander V. Kononov — Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Research and Development, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-5523-3261

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

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. Plyuschnikov — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Director of Agrarian and Technological Institute, RUDN University, Moscow, Russia

Valery V. Pronin — Doctor of Science (Biology), Professor, Head of the Centre for Preclinical Tests FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-6240-3062

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, Russia; ORCID ID 0000-0003-1085-220X

Sergey K. Starov — Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Leading Quality Assurance Expert (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
Подписку на научный журнал «Ветеринария сегодня» можно оформить через Агентство по подписке «Урал-Пресс»: Подписной индекс — 83862; 127015, г. Москва, Новодмитровская ул., дом 5а, строение 4; 8 (499) 700-05-07, факс 789-86-36 доб. 3777; moscow@ural-press.ru

Circulation: 1150. Price: unregulated
Veterinary Science Today Journal can be subscribed through the Ural-Press subscription agency: Subscription code — 83862; 127015, Moscow, Novodmitrovskaya str., 5a, str. 4; 8 (499) 700-05-07, fax 789-86-36 add. 3777; moscow@ural-press.ru

Учредитель: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Издатель: 000 «Вейнард», 129626, г. Москва, Проспект Мира, д. 102, стр. 31, комн. 12
Адрес редакции: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Типография: 000 «ГРАН ПРИ», 152900, Ярославская область, г. Рыбинск, ул. Луговая, 7
Подписано в печать: 22 марта 2021 года
Дата выхода в свет: 30 марта 2021 года

Establisher: 600901, Vladimir, Yur'yevets, FGBI "ARRIAH"
Publisher: 000 "Veinard", 129626, Moscow, 102 Prospect Mira, bld. 31, office 12
Editorial Board Office: 600901, Vladimir, Yur'yevets, FGBI "ARRIAH"
Printing Office: 000 "Grand Prix", 152900, Yaroslavl Oblast, Rybinsk, Lugovaya str., 7
Approved for print: March 22, 2021
Issued: March 30, 2021

16+

Содержание

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БИОТЕХНОЛОГИЯ

- 7** Применение спектрометрического способа опосредованной оценки концентрации 146S компонента при определении количества РНК вируса ящура
М. И. Доронин, Д. В. Михалишин, Н. Е. Камалова, А. В. Борисов
- 15** Использование специализированных добавок Sheff-Vax ACF для культивирования клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура
М. Н. Гусева, М. И. Доронин, А. А. Шишкова, Д. В. Михалишин, М. А. Шевченко, Б. Л. Манин
- 22** Отработка режимов инактивации вируса геморрагической болезни кроликов 1-го и 2-го типов
Е. Д. Куникова, Н. В. Мороз, М. А. Долгова, Л. В. Малахова, И. А. Комаров

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

- 29** Колостральный иммунитет как аналитический фактор прогнозирования развития острых респираторных вирусных инфекций у телят
Е. Н. Шилова, А. П. Порываева, Е. В. Печура, Л. В. Халтурин
- 33** Проблемы и перспективы серологической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота
М. О. Баратов
- 38** Роль респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота в этиологии респираторных болезней на молочных комплексах
С. В. Котенева, А. В. Неведченко, Т. И. Глотова, А. Г. Глотов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

- 44** Эффективность вакцин против ньюкаслской болезни производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» в отношении актуальных вирусов VII генотипа
С. В. Фролов, Н. В. Мороз, И. А. Чвала, В. Н. Ирза

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ЭПИЗООТОЛОГИЯ

- 52** Эпизоотическая ситуация по цестодовой инвазии домашних северных оленей в оленеводческих хозяйствах Мурманской области
Р. А. Почепко, А. П. Карташова, А. Лавикайнен, С. Малкамьяки

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

- 59** Индикация биопленок микроорганизмов при болезнях органов пищеварения ягнят
Е. М. Ленченко, Н. П. Сачивкина, Д. А. Блюменкранц, А. Ю. Арсений

ОБЗОРЫ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

- 68** Обзор: ключевые моменты в процессе становления микробиома млекопитающих
Е. В. Семенова, О. А. Манжурина, Ю. С. Пархоменко
- 72** МЭБ и ФАО объединяют усилия, чтобы противостоять африканской чуме свиней
Н. В. Лебедев, А. С. Иголкин, К. Н. Груздев

Contents

ORIGINAL ARTICLES | BIOTECHNOLOGY

- 7** Using spectrometric analysis for indirect estimation of 146S component concentration while measuring FMDV RNA amount
M. I. Doronin, D. V. Mikhailishin, N. Ye. Kamalova, A. V. Borisov
- 15** The use of specialised Sheff-Vax ACF supplements for BHK-21/SUSP/ARRIAH cell cultivation and FMDV reproduction
M. N. Guseva, M. I. Doronin, A. A. Shishkova, D. V. Mikhailishin, M. A. Shevchenko, B. L. Manin
- 22** Optimization of RHDV type 1 and 2 inactivation modes
E. D. Kunikova, N. V. Moroz, M. A. Dolgova, L. V. Malakhova, I. A. Komarov

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 29** Colostral immunity as an analytical factor in predicting the development of acute respiratory viral infections in calves
E. N. Shilova, A. P. Poryvaeva, E. V. Pechura, L. V. Khalturina
- 33** Problems and prospects of bovine tuberculosis serological diagnosis
M. O. Baratov
- 38** Role of bovine respiratory syncytial virus in etiology of respiratory diseases on milk farms
S. V. Koteneva, A. V. Nefedchenko, T. I. Glotova, A. G. Glotov

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

- 44** Effectiveness of vaccines produced by the Federal State-Financed Institution "ARRIAH" against topical genotype VII Newcastle disease viruses
S. V. Frolov, N. V. Moroz, I. A. Chvala, V. N. Irza

ORIGINAL ARTICLES | EPIZOOTOLOGY

- 52** Epidemic situation of cestodiasis in domestic reindeer on reindeer farms in the Murmansk Oblast
R. A. Pochevko, A. P. Kartashova, A. Lavikainen, S. Malkamäki

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 59** Visualization of microbial biofilms in case of digestive disorders in lambs
E. M. Lenchenko, N. P. Sachivkina, D. A. Blumenkrantz, A. Yu. Arsenyuk

REVIEWS | GENERAL ISSUES

- 68** Review article: key aspects of mammal microbiome development
E. V. Semenova, O. A. Manzhurina, Yu. S. Parkhomenko
- 72** OIE and FAO join forces to counter ASF
N. V. Lebedev, A. S. Igolkin, K. N. Gruzdev

От главного редактора журнала «Ветеринария сегодня»

Уважаемые читатели и коллеги! Номер журнала посвящен Дню российской науки. Наступивший 2021 год Указом Президента Российской Федерации объявлен Годом науки и технологий. Каждый месяц этого года будет иметь свою тематику и будет связан с каким-то актуальным на сегодняшний день научным направлением. В течение 2021 года при поддержке государства будут проходить просветительские мероприятия с участием ведущих деятелей науки, запускаться образовательные платформы и конкурсы для всех желающих. Одна из задач Года науки и технологий – рассказать населению страны о том, какими достижениями и учеными может гордиться Россия.

Церемония открытия тематического года приурочена к 8 февраля, когда отмечается День российской науки, учрежденный в 1999 году в соответствии с Указом Президента РФ. Эта дата была выбрана не случайно. Именно 8 февраля 1724 года Петр I подписал указ о создании Императорской Санкт-Петербургской академии наук и искусств, ставшей впоследствии Российской академией наук.

Во все времена наука являлась одним из основных национальных ресурсов, неизменной составляющей экономического процветания государства, залогом будущего страны.

Российская наука всегда шла в авангарде мирового научного прогресса и дала миру много великих имен и открытий. Несмотря на экономические трудности, она и сегодня занимает передовые позиции, добиваясь сенсационных успехов. Сегодня в стране работают замечательные ученые, чьи исследования вызывают колоссальный интерес в мире.

Собственный профессиональный праздник ученых – это признание и авторитет, оценка научного потенциала и достижений.

В этот день чувствуют людей особенных, подчас уникальных – тех, чей каждодневный труд связан с постоянным поиском, с открытиями, с дорогой в неизведанное. Благодаря людям науки, подчас непредсказуемым, но целеустремленным, активно развиваются все сферы общественной жизни.

С августа 1958 года берет свое начало история Всероссийского научно-исследовательского ящурного института (ВНИИЯИ). В настоящее время это федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), которое является референтным центром по научному и методическому обеспечению деятельности Россельхознадзора, его территориальных управлений и подведомственных организаций и осуществляет проведение научно-технических работ, направленных на обеспечение биологической безопасности и ветеринарного благополучия страны.

ФГБУ «ВНИИЗЖ» за время существования сформировало свои научные традиции и школы, получило мировую известность. Сейчас это крупнейший научно-исследовательский центр по проблемам инфекционной патологии животных, с широкой научной тематикой и высоким международным статусом. Специалистами учреждения создана современная методическая база, которая позволяет решать задачи по диагностике и эпизоотологическому мониторингу, разрабатывать прогнозы вероятного распространения заболеваний



Фото: Александр Пшонский

и подготавливать рекомендации по оздоровлению животных и птиц, а также непосредственно участвовать в лечебно-профилактических мероприятиях.

В Федеральном центре охраны здоровья животных работают 938 человек, из них 14 докторов ветеринарных и биологических наук и более 120 кандидатов наук, осуществляется подготовка 28 молодых специалистов высшей квалификации через обучение в аспирантуре.

Учеными Центра за последние 5 лет получено около 40 патентов на изобретения. Учреждением выпускается федеральная отраслевая газета «Ветеринария и жизнь», научный журнал «Ветеринария сегодня», входящий в список рецензируемых изданий, рекомендуемых ВАК РФ, ежегодно издается сборник научных статей «Труды Федерального центра охраны здоровья животных», а также материалы проводимых научных конференций. За время существования ФГБУ «ВНИИЗЖ» сотрудниками опубликовано свыше 2000 научных работ.

Учреждение прошло большой путь, расширяя направления научных исследований, меняя свою структуру, поддерживая научные кадры и осуществляя их подготовку. Все, что было сделано за прошедшие годы, – это труд большого и слаженного коллектива высококвалифицированных специалистов, которые и сегодня успешно работают над созданием эффективных средств и методов борьбы с опасными болезнями животных для обеспечения ветеринарного благополучия и биологической безопасности страны. Институт в современный период достойно продолжает свою историю и бережно соблюдает традиции, делая ставку на молодое поколение.

Хочется сказать слова благодарности и глубокой признательности всем, кто вносит свой вклад в развитие науки: докторам и кандидатам наук, аспирантам, студентам, сотрудникам научных учреждений. Всем вам низкий поклон за верность выбранной профессии, нелегкий труд, постоянное стремление к совершенствованию и поиску истины!

С уважением,
главный редактор
доктор ветеринарных наук
Артём Евгеньевич Метлин



Фото: Александр Пшонский

План мероприятий ФГБУ «ВНИИЗЖ», приуроченных к проведению Года науки и технологий в Российской Федерации

НАИМЕНОВАНИЕ МЕРОПРИЯТИЯ

СРОК И МЕСТО ПРОВЕДЕНИЯ

Курсы повышения квалификации по теме:
«Трансграничные болезни животных» (дистанционно)

февраль, апрель 2021 года
г. Владимир, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Курсы повышения квалификации по теме:
«Актуальные зоонозные заболевания» (дистанционно)

март, май 2021 года
г. Владимир, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Курс лекций ведущих научных специалистов ФГБУ «ВНИИЗЖ»
(дистанционно)

в течение 2021 года

Международная научная конференция, посвященная
60-летию аспирантуры ФГБУ «ВНИИЗЖ»,
«Достижения молодых ученых – в ветеринарную практику»

февраль 2022 года
г. Владимир, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Вебинар «ФГБУ «ВНИИЗЖ»: история и достижения» для ветеринарных
факультетов образовательных учреждений

май, сентябрь 2021 года
г. Владимир, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Международная научно-практическая конференция
ветеринарных врачей птицефабрик Российской Федерации и стран СНГ
«Актуальные вопросы диагностики и профилактики инфекционных
болезней птиц в промышленном птицеводстве»

2021 год
г. Суздаль, комплекс «Пушкарская слобода»

Создание аудиовизуальных произведений
об актуальных научных разработках ФГБУ «ВНИИЗЖ»

в течение 2021 года

Размещение статей в федеральной отраслевой газете
«Ветеринария и жизнь» и научном журнале «Ветеринария сегодня»

в течение 2021 года

Разработка рекламной продукции ФГБУ «ВНИИЗЖ»
с информацией о Года науки и технологий 2021

в течение 2021 года

Вебинар с участием приглашенных экспертов
«Всемирный день борьбы с бешенством»

28 сентября 2021 года
г. Владимир, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Применение спектрометрического способа опосредованной оценки концентрации 146S компонента при определении количества РНК вируса ящура

М. И. Доронин¹, Д. В. Михалишин², Н. Е. Камалова³, А. В. Борисов⁴

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ ORCID 0000-0002-4682-6559, e-mail: doronin@arriah.ru

² ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-5671-2347, e-mail: kamalova@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0001-9880-9657, e-mail: borisov_av@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Ящур причиняет серьезный экономический ущерб, который выражается в существенных затратах на ликвидацию болезни, введение строгих ограничений, налагаемых на внутреннюю и международную торговлю продукцией животноводства. Комплекс мер для борьбы и профилактики заболевания предполагает массовую иммунизацию восприимчивых животных, а также контроль уровня напряженности поствакцинального иммунитета. При промышленном изготовлении противоящурных вакцинных препаратов определяют концентрацию 146S частиц, которые являются основным компонентом, влияющим на иммуногенную активность вакцины. В статье представлены результаты оценки возможности применения спектрометрического способа для опосредованного определения концентрации 146S компонента при определении количества РНК вируса ящура, выделенной после серологического связывания. Данный способ является дешевым, простым в исполнении, позволяет опосредованно определять концентрацию 146S частиц вируса ящура в неинaktivированном сырье для вакцины в течение 3–4 ч. При исследовании суспензий культурального вируса ящура доказано, что линейная модель вида $C_{146S} = (3,9 \times N_{\text{РНК } 146S} + 566\,783\,689) / 280\,818\,944\,837$ с помощью спектрального исследования позволяет оценивать концентрацию 146S компонента вируса ящура в сырье для вакцины. Совпадение фактических результатов полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени и ожидаемых результатов по определению концентрации 146S компонента культурального вируса ящура спектрометрическим способом составило 97,0–99,9%. При сравнении с данными, полученными в реакции связывания комплемента, совпадение фактических и ожидаемых результатов соответствовало значениям 94,5–99,5%. Для положительного контроля совпадение фактических и ожидаемых результатов составило 99,0–99,6%. В отрицательном контрольном образце геном и 146S частицы вируса ящура не обнаружены, что также соответствовало ожиданиям.

Ключевые слова: РНК вируса ящура, концентрация 146S компонента, спектрометрический анализ.

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

Для цитирования: Доронин М. И., Михалишин Д. В., Камалова Н. Е., Борисов А. В. Применение спектрометрического способа опосредованной оценки концентрации 146S компонента при определении количества РНК вируса ящура. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 7–14. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-7-14.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

UDC 619:578.835.2:615.371.004.12:616-076

Using spectrometric analysis for indirect estimation of 146S component concentration while measuring FMDV RNA amount

M. I. Doronin¹, D. V. Mihalishin², N. Ye. Kamalova³, A. V. Borisov⁴

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ ORCID 0000-0002-4682-6559, e-mail: doronin@arriah.ru

² ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-5671-2347, e-mail: kamalova@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0001-9880-9657, e-mail: borisov_av@arriah.ru

SUMMARY

Foot and mouth disease has a negative impact on economy due to the high cost of eradication campaigns and stringent measures imposed on domestic and international trade in animal products. Prevention and control measures include mass vaccination of susceptible animals and control of post-vaccination immunity level. Concentration of 146S particles, which are the main component affecting the vaccine immunogenicity, is determined during commercial scale production of FMD vaccines. The paper assesses feasibility of spectrometric analysis for indirect determination of 146S component concentration while measuring amount of FMDV RNA isolated after serological binding. This method is cheap, easy-to-use and makes it possible to determine indirectly concentration of FMDV 146S particles in inactivated vaccine raw materials within 3–4 hours. Study of cultural FMDV suspensions shows that the linear model $C_{146S} = (3.9 \times N_{RNA\ 146S} + 566,783,689)/280,818,944,837$ makes it possible to estimate FMDV 146S component concentration in the vaccine raw materials with the help of a spectrometric analysis. The actual results obtained in real-time reverse transcription – polymerase chain reaction (rtRT-PCR) were 97.0–99.9% consistent with the expected results of the spectrometric analysis used to determine cultural FMDV 146S component concentration. When compared to a complement fixation test, the actual results were 94.5–99.5% in line with the expected ones. The actual results for positive control were 99.0–99.6% in line with the expected ones. As expected, no FMDV genome or 146S particles were detected in the negative control sample.

Keywords: Foot-and-mouth disease virus (FMDV) RNA, 146S component concentration, spectrometric analysis.

Acknowledgements: The study was funded by the FGBI "ARRIAH" within the framework of "Veterinary Welfare" research work.

For citation: Doronin M. I., Mikhailishin D. V., Kamalova N. Ye., Borisov A. V. Using spectrometric analysis for indirect estimation of 146S component concentration while measuring FMDV RNA amount. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 7–14. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-7-14.

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

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

ВВЕДЕНИЕ

Ящур – острое инфекционное вирусное заболевание преимущественно диких и домашних парнокопытных животных [1]. Вирус ящура характеризуется высокой антигенной вариабильностью за счет изменений в генах поверхностных белков, известны 7 серотипов вируса: А, О, С, Азия-1, CAT-1, CAT-2, CAT-3, включающих множество подтипов [2].

Геном представлен одноцепочечной позитивной РНК длиной около 8 500 н. о. Молекулярный вес вириона находится в диапазоне от 8 080 000 до 8 167 500 Да [2, 3]. В результате заражения биологических систем вирус ящура формирует 4 варианта частиц с разными значениями коэффициента седиментации: 146S компонент (полные частицы), состоящие из одной молекулы вирусной РНК и 60 копий полипептида VP_1 - VP_2 - VP_3 - VP_4 ; 75S компонент, лишенный РНК и включающий в себя 60 копий полипептида VP_1 - VP_3 - VP_4 ; 12S частицы, представленные белками VP_1 , VP_2 , VP_3 ; 3,8S субъединицы, состоящие из функционального протеина VP_9 [4].

Ящур причиняет серьезный экономический ущерб, который включает затраты на ликвидацию болезни, введение строгих ограничений, налагаемых на внутреннюю и международную торговлю продукцией животноводства. Комплекс мер для борьбы и профилактики заболевания предполагает проведение стемпинг-аута, массовую иммунизацию восприимчивых животных, а также контроль уровня напряженности поствакцинального иммунитета [1, 5].

При промышленном производстве противоящурных вакцин определяют концентрацию 146S компонента, влияющего непосредственно на иммуногенную активность препарата [2]. Традиционно для этого применяют количественный вариант реакции связывания комплемента (РСК) и проводят оценку в соответствии с методическими рекомендациями [6]. Однако метод имеет ряд недостатков: трудоемкость и длительность

проводимого анализа (до 3 суток), невозможность одновременного исследования большого количества проб, вопреки требованиям производственного процесса, а также высокая себестоимость процедуры. В последние годы для опосредованного определения концентрации 146S компонента вируса ящура в неинaktivированной суспензии стали использовать полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) [7]. Представленный метод является высокочувствительным, специфичным, экономичным, быстрым в проведении и получении результатов анализа, а также позволяет одновременно исследовать несколько десятков проб неинaktivированного вирусосодержащего материала. Однако метод ОТ-ПЦР-РВ предполагает использование дорогостоящих реактивов и оборудования.

Разработан спектрометрический способ опосредованного определения концентрации 146S компонента вируса ящура в неинaktivированных суспензиях при оценке количества вирусной РНК, выделенной после серологического связывания полных частиц, с применением линейной модели $C_{146S} = (3.9 \times N_{PHK\ 146S} + 566\,783\,689)/280\,818\,944\,837$. Предложенный способ является дешевым, простым в исполнении, позволяет определять концентрацию 146S частиц вируса ящура в неинaktivированном сырье для вакцины в течение 3–4 ч [8].

Цель работы – оценить возможность применения спектрометрического способа для опосредованного определения концентрации 146S компонента при анализе количества РНК вируса ящура в суспензиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирус. В работе использовали неинaktivированные суспензии культурального вируса ящура производственных вакцинных штаммов А/Турция/2006, А/ВНИИЗЖ/2015, О/Приморский/2012, О/Приморский/2014, Азия-1/

Таджикистан/2011, CAT-2/Саудовская Аравия 7/2000. Культивирование вируса проводили в суспензионной перевиваемой линии клеток почки новорожденного сирийского хомячка (BHK-21/SUSP/ARRIAH) с концентрацией $(3,0-3,5) \times 10^6$ млн кл./см³.

Иммунизацию планшета и серологическое связывание вируса ящура штаммоспецифическими иммуноглобулинами G (IgG) проводили в соответствии с требованиями, представленными ранее [8].

Экстрагирование РНК из полных частиц вируса ящура. Процесс элюирования РНК из 146S компонента вируса ящура, связанных штаммоспецифическими IgG, проводили в соответствии с методикой Р. Chomczynski [9, 10]. В итоге получали по 0,1 см³ 30-кратных экстрактов вирусной РНК. Данные элюаты либо сразу применяли в дальнейшей работе, либо замораживали при температуре минус 20 °С.

Измерение степени чистоты элюата РНК вируса ящура с помощью спектрального анализа. Спектральную поглощающую способность экстрактов РНК вируса ящура проводили в ультрафиолетовом спектре света при длинах волн в диапазоне 205–325 нм. Содержание в препарате остатков фосфолипидов, полисахаридов и гуанидин изотиоцианата, фенола, полипептидов, крупных конгломератов оценивали, определяя значения оптической плотности (OD) при длинах волн 205, 235, 270, 280 и 320 нм соответственно [11]. Элюат РНК считали свободным от примесей белка и фенола, если коэффициент экстинкции $R_1 (OD_{262}/OD_{280})$ находился в пределах 1,8–2,2 и его значение приближалось к 2,0. Превышение данного показателя свидетельствовало о деградации нуклеиновой кислоты до олигонуклеотидов и свободных нуклеотидов. Экстракт РНК вируса ящура считали незагрязненным углеводами, если коэффициент экстинкции $R_2 (OD_{262}/OD_{235})$ находился в диапазоне значений 2,00–2,02. При замещении 1% РНК на полисахаридные составляющие значение коэффициента R_2 уменьшается на 0,002. При $R_2 > 2,02$ наблюдается процесс диссоциации нуклеиновой кислоты и отмечается наличие свободных нуклеотидов или олигонуклеотидов в элюате исследуемого образца. Отсутствие крупных взвешенных частиц в экстракте РНК вируса ящура подтверждали, если значение OD_{320} стремилось к нулю [12].

Определение количества молекул РНК вируса ящура. Количество молекул РНК, экстрагированных из полных частиц вируса ящура ($N_{\text{РНК } 146S}$), определяли с использованием математического выражения:

$$N_{\text{РНК } 146S} = 0,98 \times \frac{41,67 \times K \times (OD_{262} - OD_{320} - OD_{260 \text{ К.}}) \times N_A}{10^{7,48} \times Mw_{\text{рибонуклеозида}} \times L},$$

где K – кратность разведения элюата РНК, выделенной из полных частиц вируса ящура;

OD_{262} – значение оптической плотности экстракта РНК, выделенной из 146S компонента вируса ящура, при длине волны 262 нм;

OD_{320} – значение оптической плотности элюата РНК, выделенной из 146S частиц вируса ящура, при длине волны 320 нм;

$OD_{260 \text{ К.}}$ – значение оптической плотности отрицательного контроля при длине волны 260 нм;

N_A – значение постоянной Авогадро (в Международной системе единиц (СИ) согласно изменениям определений основных единиц точно равно $6,02214076 \times 10^{23}$ моль⁻¹);

$Mw_{\text{рибонуклеозида}}$ – средний молекулярный вес рибонуклеозида (340,5 Да);

L – длина РНК вируса ящура (около 8 500 н. о., в соответствии с данными National Center for Biotechnology Information);

41,67 – фактор для РНК вируса ящура ($F_{\text{РНКВЯ}}$);

$1/10^{7,48}$ – суммарный коэффициент перевода массы из [мкг] в [г] и пересчета количества молекул РНК вируса ящура из тридцатикратного элюата в однократный экстракт [8].

Определение концентрации 146S частиц по количеству молекул РНК вируса ящура. На основе полученных данных о количестве молекул вирусной РНК ($N_{\text{РНК } 146S}$) определяли концентрацию 146S частиц вируса ящура (C_{146S}), пользуясь математическим выражением $C_{146S} = (3,9 \times N_{\text{РНК } 146S} + 566\,783\,689)/280\,818\,944\,837$ [8].

Параллельно для определения концентрации полных частиц вируса ящура (в мкг/см³) применяли количественный вариант РСК, проведение осуществляли в соответствии с требованиями [6].

Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ). Количественный анализ РНК вируса ящура в неинaktivированной суспензии для изготовления вакцины проводили методом ОТ-ПЦР-РВ в соответствии с требованиями. По итогам проводимого исследования определяли значение порогового цикла амплификации, тем самым опосредованно оценивали количество нуклеиновой кислоты вируса и интерпретировали полученные данные для определения концентрации 146S частиц вируса ящура [7].

Контрольные образцы. В качестве положительного контроля применяли неинaktivированную суспензию штамма Азия-1/Таджикистан/2011 вируса ящура с концентрацией 146S компонента 3,7 мкг/см³, репродукцию которого проводили в суспензионной перевиваемой линии клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH. Отрицательным контролем служила суспензия культуры клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH с концентрацией $(3,0-3,5) \times 10^6$ млн кл./см³.

Статистическая обработка данных подразумевала: расчет средних арифметических значений и достоверности статистической разницы между средними величинами, определенными методом Стьюдента – Фишера; расчет стандартных отклонений концентраций числа молекул РНК и количества полных частиц вируса ящура. Обработку результатов и оформление гистограмм проводили с применением пакета прикладных программ StatSoft (версия 6.0) и Microsoft Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании проводили тестирование спектрометрического способа опосредованного определения концентрации 146S частиц при оценке количества РНК вируса ящура указанных в материалах и методах штаммов. Каждое исследование предусматривало применение положительного и отрицательного контрольных образцов, представленных выше.

На первом этапе работы определяли концентрацию 146S компонента вируса ящура штамма Азия-1/Таджикистан/2011 (положительный контроль) спектрометрическим способом при оценке количества вирусной РНК, выделенной после серологического связывания с помощью IgG, а также посредством количественных вариантов РСК и ОТ-ПЦР-РВ. Проводили процесс иммунного

связывания полных вирусных частиц из неинактивированной суспензии вируса и экстрагирование РНК из 146S компонента вируса ящура, связанных штаммоспецифическими антителами. Итоговые данные анализа степени чистоты полученных элюатов для опытного и контрольных образцов отражены в таблице.

Из результатов спектрального анализа 30-кратного элюата РНК вируса ящура штамма Азия-1/Таджикистан/2011 видно, что средние значения степени экстинкции при длинах волны 205–259 нм ($OD_{205-259}$) и 263–325 нм ($OD_{263-325}$) не превышали $OD_{260-262}$ (0,001–0,948 < 0,951–0,952 и 0,947–0,002 < 0,951–0,952). Иными словами, препарат содержал преимущественно рибонуклеиновую кислоту. Элюат не содержал примесей фосфолипидов, полисахаридов и остатков гуанидин изотиоцианата, карболовой кислоты, белков и крупных конгломератов, так как на спектрограмме отсутствовали выраженные пики при длинах волны 205, 235, 270, 280 и 320 нм соответственно. Коэффициент экстинкции R_1 составлял 1,996 ($OD_{262}/OD_{280} = 0,952/0,477$), что приближено к значению нормы 2,000, означает высокую степень чистоты элюата и практически полное отсутствие полипептидных составляющих и остатков карболовой кислоты после этапа выделения РНК. Коэффициент экстинкции R_2 составлял 2,000 ($OD_{262}/OD_{235} = 0,952/0,476$), что также соответствовало норме и было показателем высокой степени чистоты контрольного препарата. Такая чистота препарата повышает достоверность проводимого анализа [12].

В результате спектрометрического исследования экстракта РНК вируса ящура получены следующие средние значения оптической плотности: $OD_{262} = 0,952 \pm 0,001$, $OD_{320} = 0,002$, $OD_{260K} = 0,006$ (для OD_{320} и OD_{260}). Среднеарифметическое число молекул РНК (число структурных частиц), выделенных из 146S компонента вируса ящура штамма Азия-1/Таджикистан/2011, составило $265\ 600\ 889\ 380 \pm 331\ 586\ 628$. Пользуясь разработанной линейной моделью связи C_{146S} и $N_{РНК}$ 146S [8], опосредованно определили значение концентрации анализа в положительном контроле, которое составило $3,691 \pm 0,004$ мкг/см³, что коррелировало с результатами количественного варианта РСК ($3,710 \pm 0,170$ мкг/см³) и ОТ-ПЦР-РВ ($3,700 \pm 0,030$ мкг/см³) на 99,43 и 99,84% соответственно. Таким образом, положительный контроль удовлетворял требованиям по степени чистоты и содержанию заявленного количества 146S компонента. В отрицательном контроле РНК и 146S частиц вируса ящура обнаружено не было ни одним из представленных методов.

Параллельно определяли концентрацию 146S компонента вируса в опытных образцах штаммов А/Турция/2006, А/ВНИИЗЖ/2015, О/Приморский/2012, О/Приморский/2014, Азия-1/Таджикистан/2011 и САТ-2/Саудовская Аравия 7/2000 с помощью спектрометрического метода при оценке количества РНК вируса ящура, элюированной после процесса серологического связывания, а также в количественных вариантах РСК и ОТ-ПЦР-РВ. Этапы исследования проводили, как указано выше. Результаты оценки степени чистоты элюатов РНК указанных штаммов вируса ящура представлены на рисунке и в таблице.

Из данных спектрального анализа 30-кратного элюата РНК вируса ящура штамма А/Турция/2006 видно, что средние значения экстинкции при длинах волны 205–259 и 263–325 нм не превышали

$OD_{260-262}$ (0,001–0,482 < 0,483–0,488 и 0,487–0,002 < 0,483–0,488), иными словами, препарат содержал преимущественно молекулы РНК. Элюат не был контаминирован примесями фосфолипидов, полисахаридами и остатками гуанидин изотиоцианата, фенола, белковыми компонентами и крупными конгломератами, так как на спектрограмме отсутствовали выраженные пики при длинах волны 205, 235, 270, 280 и 320 нм соответственно. Коэффициент экстинкции R_1 составлял 1,984 ($OD_{262}/OD_{280} = 0,488/0,246$), что приближено к значению нормы 2,000 и означает практически полное отсутствие полипептидов и остатков карболовой кислоты после этапа экстрагирования РНК. Значение коэффициента экстинкции R_2 составляло 1,992 ($OD_{262}/OD_{235} = 0,488/0,245$), что близко к 2,000 и говорит о высокой чистоте элюата. При замещении 1% РНК на полисахариды коэффициент R_2 снижался на 0,002, т. е. в полученном экстракте наличие полисахаридных компонентов не превышало 4%, что допустимо (не более 10%) [12].

При проведении спектрометрического анализа экстракта РНК вируса ящура штамма А/Турция/2006 получены следующие средние значения оптических плотностей: $OD_{262} = 0,488 \pm 0,001$, $OD_{320} = 0,002$, $OD_{260K} = 0,006$ (для OD_{320} и OD_{260}). Среднеарифметическое число структурных частиц (РНК), выделенных из полных вирусных частиц, составило $135\ 051\ 299\ 685 \pm 281\ 356\ 875$. С использованием разработанной линейной модели связи C_{146S} и $N_{РНК}$ 146S [8] рассчитали значение концентрации 146S компонента, которое составило $1,878 \pm 0,004$ мкг/см³, что коррелировало с результатами количественных вариантов РСК ($1,900 \pm 0,180$ мкг/см³) и ОТ-ПЦР-РВ ($1,895 \pm 0,032$ мкг/см³) на 98,84 и 99,89% соответственно. Таким образом, разработанная ранее линейная модель с помощью спектрального анализа позволяет определять концентрацию 146S компонента вируса ящура в неинактивированной суспензии для изготовления вакцинных препаратов.

Спектральное исследование 30-кратного элюата РНК вируса ящура штамма А/ВНИИЗЖ/2015 показало, что средние значения экстинкции при длинах волны 205–259 и 263–325 нм не превышали $OD_{260-262}$ (0,001–0,403 < 0,404–0,407 и 0,403–0,001 < 0,404–0,407), т. е. полученный препарат содержал преимущественно рибонуклеиновую кислоту. Экстракт не содержал примесей фосфолипидов, полисахаридов и остатков гуанидин изотиоцианата, фенола, полипептидов и крупных взвешенных частиц, поскольку на диаграмме отсутствуют выраженные пики при длинах волны 205, 235, 270, 280 и 320 нм соответственно. Коэффициент экстинкции R_1 составлял 1,995 ($OD_{262}/OD_{280} = 0,407/0,204$), что приближено к норме 2,000 и означает практически полное отсутствие белка и примесей карболовой кислоты. Коэффициент экстинкции R_2 равен 1,995 ($OD_{262}/OD_{235} = 0,407/0,204$), что близко к 2,000 и указывает на высокую чистоту вытяжки. При замещении 1% РНК на полисахаридные компоненты коэффициент R_2 снижался на 0,002, следовательно, в полученном препарате наличие полисахаридных компонентов не превышает 2,5%, что является допустимым [12].

По итогам спектрометрического анализа элюата РНК вируса ящура штамма А/ВНИИЗЖ/2015 были получены следующие средние значения оптической плотности: $OD_{262} = 0,407 \pm 0,001$, $OD_{320} = 0,003$, $OD_{260K} = 0,006$ (для OD_{320} и OD_{260}). Среднеарифметическое число молекул РНК, элюированных из 146S частиц вируса ящура

Таблица

Соотношение результатов опосредованного определения концентрации 146S частиц исследуемых образцов по количеству молекул РНК вируса ящура и корреляции с данными РСК и ОТ-ПЦР-РВ ($n = 3, p < 0,005$)

Table

Correlation between results of indirect 146S concentration determination in the tested samples based on the number of FMDV RNA molecules and correlation with CFT and rRT-PCR data ($n = 3, p < 0.005$)

Шагм вирус ящура	Спектральный анализ элюата РНК						OD _{260н.ф.}	N _{РНК 146S.ф.}	C _{146S.ф.} , мкг/см ³		
	OD _{262ф.}	OD _{235ф.}	OD _{280ф.}	OD _{320ф.}	R ₁	R ₂			спектральный анализ*	РСК [6]	ОТ-ПЦР-РВ [7]
Азия-1/Таджикистан/2011	0,810 ± 0,001	0,407 ± 0,001	0,406 ± 0,001	0,003 ± 0,000	1,995	2,000	0,006 ± 0,000	225 366 856 349 ± 281 356 874	3,132 ± 0,004	3,150 ± 0,170	3,137 ± 0,040
А/Турция/2006	0,488 ± 0,001	0,245 ± 0,002	0,246 ± 0,001	0,002 ± 0,000	1,984	1,992	0,006 ± 0,000	135 051 299 685 ± 281 356 871	1,878 ± 0,004	1,900 ± 0,180	1,876 ± 0,040
О/Приморский/2014	0,314 ± 0,002	0,157 ± 0,001	0,158 ± 0,001	0,002 ± 0,000	1,987	2,000	0,006 ± 0,000	86 095 203 549 ± 562 713 749	1,198 ± 0,008	1,210 ± 0,150	1,204 ± 0,050
А/ВНИИЗЖ/2015	0,407 ± 0,001	0,204 ± 0,001	0,204 ± 0,001	0,003 ± 0,000	1,995	1,995	0,006 ± 0,000	111 698 679 114 ± 281 356 870	1,553 ± 0,004	1,580 ± 0,170	1,554 ± 0,041
О/Приморский/2012	0,339 ± 0,002	0,170 ± 0,001	0,171 ± 0,001	0,001 ± 0,000	1,982	1,994	0,006 ± 0,000	93 410 482 282 ± 562 713 747	1,299 ± 0,008	1,330 ± 0,160	1,314 ± 0,050
САТ-2/Сауровская Аравия 7/2000	0,203 ± 0,002	0,102 ± 0,001	0,103 ± 0,001	0,001 ± 0,000	1,971	1,990	0,006 ± 0,000	54 864 590 497 ± 562 713 752	0,764 ± 0,008	0,750 ± 0,140	0,768 ± 0,040
Азия-1/Таджикистан/2011 (положительный контроль)	0,952 ± 0,001	0,476 ± 0,001	0,477 ± 0,001	0,002 ± 0,000	1,996	2,000	0,006 ± 0,000	265 600 889 380 ± 331 586 628	3,691 ± 0,004	3,710 ± 0,170	3,700 ± 0,030

OD_{262ф.} — среднее значение экстинкции при 262 нм; OD_{235ф.} — среднее значение экстинкции при 235 нм; OD_{280ф.} — среднее значение экстинкции при 280 нм;
OD_{320ф.} — среднее значение экстинкции при 320 нм; OD_{260н.ф.} — среднее значение экстинкции отрицательного контроля при 260 нм;
R₁ — коэффициент экстинкции (OD₂₆₂/OD₂₈₀), рассчитанный исходя из средних значений OD при длинах волн 262 и 280 нм;
R₂ — коэффициент экстинкции (OD₂₆₂/OD₂₃₅), рассчитанный исходя из средних значений OD при длинах волн 262 и 235 нм;
N_{РНК 146S.ф.} — среднее количество молекул РНК, выделенных из 146S частиц вируса ящура; C_{146S.ф.} — среднее значение концентрации 146S частиц вируса ящура;
* предложенный спектрометрический способ опосредованного определения концентрации полных частиц вируса ящура [8].
OD_{262mean} — mean extinction for 262 nm; OD_{235mean} — mean extinction for 235 nm; OD_{280mean} — mean extinction for 280 nm;
OD_{320mean} — mean extinction for 320 nm; OD_{260C-mean} — mean extinction of negative control for 260 nm;
R₁ — extinction coefficient (OD₂₆₂/OD₂₈₀), calculated based on OD mean values at the wavelengths of 262 and 280 nm;
R₂ — extinction coefficient (OD₂₆₂/OD₂₃₅), calculated based on OD mean values at the wavelengths of 262 and 235 nm;
N_{RNA 146Smean} — average number of RNA molecules, isolated from FMDV 146S particles; C_{146Smean} — mean concentration of FMDV 146S particles;
* the proposed spectrometric method to indirectly determine concentration of the whole FMDV particles [8].

после серологического штаммоспецифического связывания в результате реакции нейтрализации, составило $111\,698\,679\,114 \pm 281\,356\,870$. Значение концентрации 146S компонента вируса ящура в полученном образце было $1,553 \pm 0,004$ мкг/см³, что коррелировало с результатами количественных вариантов РСК ($1,58 \pm 0,17$ мкг/см³) и ОТ-ПЦР-РВ ($1,555 \pm 0,041$ мкг/см³) на 98,29 и 99,94% соответственно. Следовательно, указанная выше математическая линейная функция с помощью спектрального анализа позволяет определять концентрацию полных частиц вируса ящура в неинaktivированной суспензии для изготовления широкого спектра вакцинных препаратов [8].

Результаты спектрального анализа элюата РНК вируса ящура штамма О/Приморский/2014 показали, что средние значения $OD_{205-259}$ и $OD_{263-325}$ не превышали $OD_{260-262}$ ($0,001-0,311 < 0,312-0,314$ и $0,311-0,001 < 0,312-0,314$), следовательно, полученный экстракт содержал преимущественно молекулы рибонуклеиновой кислоты. Элюат не загрязнен примесями фосфолипидов, углеводов и остатками гуанидин изотиоцианата, карболовой кислоты, полипептидов и крупными агрегированными частицами, так как на спектрограмме отсутствовали выраженные пики при длинах волны 205, 235, 270, 280 и 320 нм соответственно. Коэффициент экстинкции R_1 соответствовал значению 1,987 ($OD_{262}/OD_{280} = 0,314/0,158$), что приближено к нормальному значению 2,000 и означает практически полное отсутствие пептидов и остатков карболовой кислоты в препарате РНК. Коэффициент экстинкции R_2 составлял 2,000 ($OD_{262}/OD_{235} = 0,314/0,157$),

что соответствует норме и свидетельствует об отсутствии полисахаридных примесей и признаков деградации вирусной РНК [12].

При проведении спектрометрического исследования элюата РНК вируса ящура штамма О/Приморский/2014 были получены следующие средние значения оптической плотности: $OD_{262} = 0,314 \pm 0,002$, $OD_{320} = 0,002$, $OD_{260K} = 0,006$ (для OD_{320} и OD_{260}). Среднее содержание структурных частиц РНК в экстракте составило $86\,095\,203\,549 \pm 562\,713\,749$, значение концентрации 146S компонента вируса соответствовало значению $1,198 \pm 0,008$ мкг/см³, что коррелировало с данными количественных вариантов РСК ($1,21 \pm 0,15$ мкг/см³) и ОТ-ПЦР-РВ ($1,199 \pm 0,045$ мкг/см³) на 99,01 и 99,50% соответственно. Таким образом, разработанная ранее линейная математическая модель с помощью спектрального анализа дает возможность определять содержание 146S компонента вируса ящура в неинaktivированном сырье для производства противоящурных вакцин [8].

При тестировании спектрометрического способа опосредованного определения концентрации 146S частиц при оценке содержания молекул РНК вируса ящура штамма О/Приморский/2012 установили, что средние значения $OD_{205-259}$ и $OD_{263-325}$ не превышали $OD_{260-262}$ ($0,002-0,335 < 0,336-0,339$ и $0,334-0,001 < 0,336-0,339$), иными словами, экстракт содержал преимущественно молекулы РНК. Элюат не загрязнен примесями фосфолипидов, углеводных компонентов и остатками гуанидин изотиоцианата, гидроксibenзола, белков и конгломератов, поскольку на спектрограмме отсутствовали

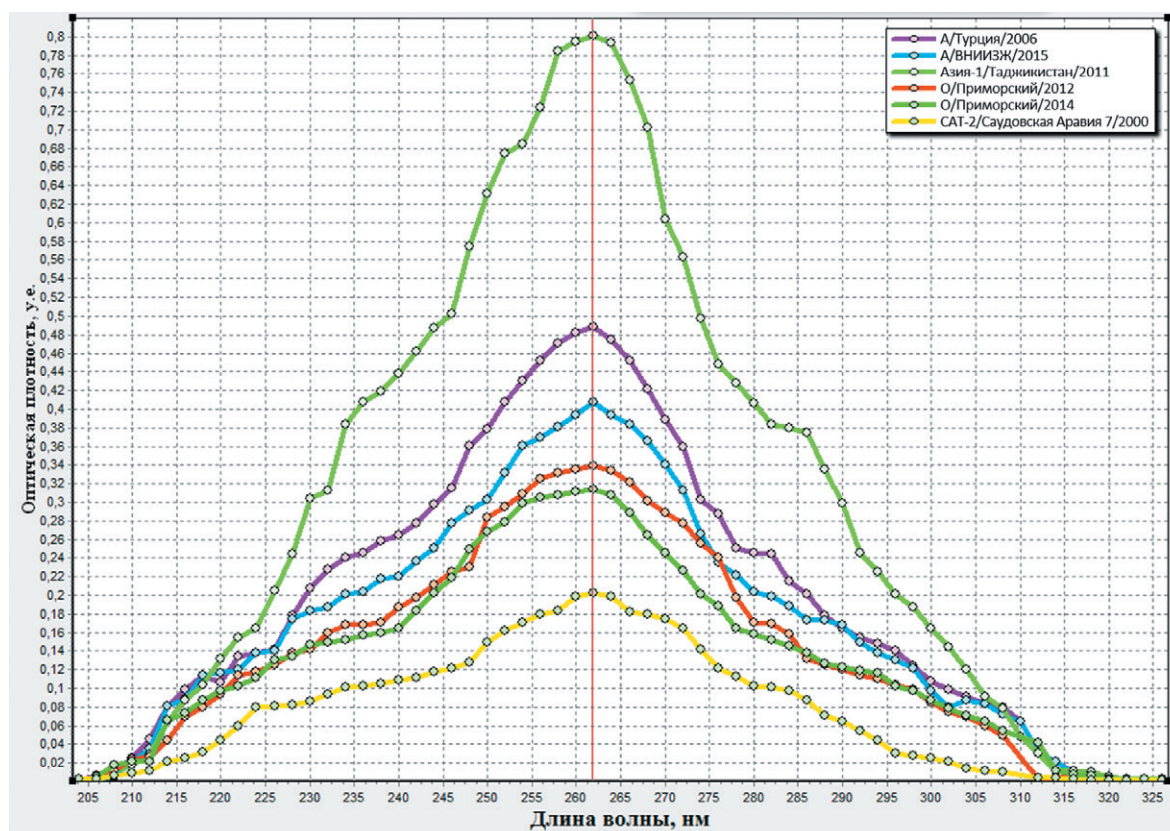


Рис. Спектрограммы экстрактов РНК вируса ящура исследуемых штаммов для оценки чистоты и определения концентрации 146S частиц в исходных суспензиях

Fig. Spectrograms of the FMDV RNA extracts of the studied strains to assess purity and determine concentration of 146S particles in the original suspensions

выраженные пики при длинах волны 205, 235, 270, 280 и 320 нм соответственно. Коэффициент экстинкции R_1 составлял 1,982 ($OD_{262}/OD_{280} = 0,339/0,171$), что приближено к значению нормы 2,000 и означает практически полное отсутствие полипептидов и пептидов, а также остатков карбоновой кислоты в анализируемом экстракте. Коэффициент экстинкции R_2 соответствовал значению 1,994 ($OD_{262}/OD_{235} = 0,339/0,170$), что близко к норме (2,000). Полученные данные обуславливают отсутствие признаков деградации вирусной РНК и содержание полисахаридных примесей в количестве, не превышающем 3%, что допустимо [12].

В результате проведения спектрометрического анализа элюированного препарата вирусной нуклеиновой кислоты получены следующие средние значения оптической плотности: $OD_{262} = 0,339 \pm 0,002$, $OD_{320} = 0,001$, $OD_{260K} = 0,006$ (для OD_{320} и OD_{260}). Среднее количество молекул РНК в образце составило $93\,410\,482\,282 \pm 562\,713\,747$, а концентрация полных частиц вируса ящура штамма О/Приморский/2012 – $1,299 \pm 0,008$ мкг/см³, что коррелировало с результатами количественных вариантов РСК ($1,33 \pm 0,16$ мкг/см³) и ОТ-ПЦР-РВ ($1,302 \pm 0,052$ мкг/см³) на 97,67 и 98,66% соответственно. Таким образом, используемое в работе математическое выражение с помощью спектрального исследования дает возможность оценивать концентрацию компонента вируса ящура с коэффициентом седиментации 146S в неинaktivированной суспензии для вакцинных препаратов против ящура [8].

Спектральное исследование 30-кратного элюата РНК вируса ящура штамма Азия1/Таджикистан/2011 показало, что средние значения $OD_{205-259}$ и $OD_{263-325}$ не превышали $OD_{260-262}$ ($0,001-0,801 < 0,802-0,810$ и $0,801-0,003 < 0,802-0,810$), следовательно, элюат содержал в своем составе преимущественно рибонуклеиновую кислоту. Выделенный препарат не содержал примесей фосфолипидов, углеводов и остатков детергента гуанидин изотиоцианата, гидроксibenзола, полипептидов и взвешенных конгломератов, так как на спектрограмме отсутствовали выраженные пики при длинах волны 205, 235, 270, 280 и 320 нм соответственно. Коэффициент экстинкции R_1 соответствовал значению 1,995 ($OD_{262}/OD_{280} = 0,810/0,406$), что приближено к нормальному значению 2,000 и означает высокую степень чистоты элюата РНК вируса и практически полное отсутствие полипептидных составляющих и остатков карбоновой кислоты. Коэффициент экстинкции R_2 составлял 1,990 ($OD_{262}/OD_{235} = 0,810/0,407$), что также близко к 2,000 и свидетельствует о высокой чистоте образца. При замещении 1% нуклеиновой кислоты на полисахаридные составляющие значение коэффициента экстинкции R_2 уменьшается на 0,002, следовательно, в полученном экстракте наличие углеводных компонентов составляло не более 5%, что является допустимым [12]. Таким образом, элюат вирусной нуклеиновой кислоты, выделенной из пробы вируса ящура штамма Азия1/Таджикистан/2011, имел высокую степень чистоты, что позволяло с высокой степенью достоверности определить число структурных частиц (молекул РНК).

По данным спектрального анализа, средние значения оптической плотности OD_{262} составляли $0,810 \pm 0,001$, $OD_{320} = 0,003$, $OD_{260K} = 0,006$ (для OD_{320} и OD_{260}). Среднеарифметическое количество молекул РНК, выделенных из полных вирусных частиц, было $225\,366\,856\,349 \pm 281\,356\,874$, концентрация

146S компонента вируса ящура штамма Азия1/Таджикистан/2011 – $3,132 \pm 0,004$ мкг/см³, что коррелирует с результатами, полученными в РСК ($3,150 \pm 0,170$ мкг/см³) и ОТ-ПЦР-РВ ($3,136 \pm 0,040$ мкг/см³), на 99,49 и 99,76% соответственно. Отсюда следует, что разработанная с помощью данных спектрального анализа линейная алгебраическая функция связи C_{146S} и $N_{РНК\,146S}$ позволяет оценивать концентрацию полных частиц в неинaktivированной суспензии для вакцины против ящура [8].

В результате спектрального исследования 30-кратного элюата рибонуклеиновой кислоты вируса ящура штамма САТ-2/Саудовская Аравия 7/2000 обнаружили, что средние значения экстинкции при длинах волны 205–259 и 263–325 нм не превышали $OD_{260-262}$ ($0,002-0,199 < 0,200-0,203$ и $0,198-0,001 < 0,200-0,203$), т.е. элюат включал преимущественно РНК. Экстракт не был загрязнен фосфолипидными примесями, углеводами и остатками гуанидин изотиоцианата, гидроксibenзола, полипептидов и взвешенных конгломератов, так как на спектрограмме отсутствовали выраженные пики при длинах волны 205, 235, 270, 280 и 320 нм соответственно. Коэффициент экстинкции R_1 составлял 1,971 ($OD_{262}/OD_{280} = 0,203/0,102$), что приближено к норме 2,000 и означает практически полное отсутствие полипептидов и остатков карбоновой кислоты в препарате. Коэффициент экстинкции R_2 соответствовал значению 1,990 ($OD_{262}/OD_{235} = 0,203/0,102$), что близко к 2,000 и обуславливает высокую степень чистоты образца. При замещении 1% РНК на углеводы коэффициент R_2 снижается на 0,002, иными словами, в полученном препарате наличие полисахаридов не превышает 5%, что допустимо [12].

По итогам спектрометрического исследования экстракта РНК получены следующие средние значения экстинкции: $OD_{262} = 0,203 \pm 0,002$, $OD_{320} = 0,002$, $OD_{260K} = 0,006$ (для OD_{320} и OD_{260}). Среднее число молекул нуклеиновой кислоты, выделенной из частиц вируса ящура штамма САТ-2/Саудовская Аравия 7/2000 с коэффициентом седиментации 146S, составило $54\,864\,590\,497 \pm 562\,713\,752$. Значение концентрации 146S компонента вируса ящура соответствовало значению $0,764 \pm 0,008$ мкг/см³, что коррелировало с результатами количественных вариантов РСК ($0,75 \pm 0,14$ мкг/см³) и ОТ-ПЦР-РВ ($0,765 \pm 0,044$ мкг/см³) на 98,10 и 99,48% соответственно. Следовательно, разработанная ранее линейная математическая модель с помощью спектрального анализа позволяет оценивать содержание полных частиц вируса ящура в неинaktivированной суспензии для вакцинных препаратов [8].

На заключительном этапе проводили тестирование спектрометрического способа для определения концентрации 146S частиц в 410 неинaktivированных суспензиях вируса ящура вакцинных штаммов А/Турция/2006, А/ВНИИЗЖ/2015, О/Приморский/2012, О/Приморский/2014, Азия-1/Таджикистан/2011, САТ-2/Саудовская Аравия 7/2000. Исследования проводили параллельно количественными методами ОТ-ПЦР-РВ и РСК в трех повторениях. Совпадение фактических результатов в ОТ-ПЦР-РВ и ожидаемых результатов по определению концентрации 146S компонента культурального вируса ящура спектрометрическим способом составило 97,0–99,9%. При сравнении с данными РСК совпадение фактических и ожидаемых результатов соответствовало значениям 94,5–99,5%. Для положительного контроля совпадение фактических и ожидаемых результатов было 99,0–99,6%. В отрицательном контрольном

образце РНК и 146S частицы вируса ящура не обнаружены, что соответствовало ожиданиям. Таким образом, по результатам проведенного исследования корреляция спектрометрического способа для определения содержания 146S компонента при оценке количества рибонуклеиновой кислоты вируса ящура, выделенной после серологического связывания полных частиц с помощью штаммоспецифических IgG, с количественными вариантами ОТ-ПЦР-РВ и РСК составила 94,5–99,9%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведена оценка возможности применения спектрометрического способа для опосредованного определения концентрации 146S компонента по количеству молекул нуклеиновой кислоты вируса ящура, выделенной после серологического связывания полных вирусных частиц с помощью IgG. Данный способ является дешевым, простым в исполнении, позволяет определять содержание 146S частиц вируса ящура в неинaktivированной суспензии для противоящурной вакцины в течение 3–4 ч.

При исследовании неинaktivированных суспензий культурального вируса ящура штаммов А/Турция/2006, А/ВНИИЗЖ/2015, О/Приморский/2012, О/Приморский/2014, Азия/7/2000 доказано, что линейная алгебраическая модель вида $C_{146S} = (3,9 \times N_{\text{РНК } 146S} + 566\,783\,689) / 280\,818\,944\,837$ с помощью спектрального исследования позволяет опосредованно оценивать концентрацию 146S компонента вируса ящура в сырье для широкого спектра вакцинных препаратов.

Выявлено, что корреляция спектрометрического способа для определения содержания полных вирусных частиц при оценке количества нуклеиновой кислоты вируса ящура, выделенной после серологического связывания, с количественными вариантами ОТ-ПЦР-РВ и РСК составила 94,5–99,9%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

(п. п. 1, 3–5, 9, 10, 12 см. REFERENCES)

- Пономарев А. П., Узюмов В. Л. Вирус ящура: структура, биологические и физико-химические свойства. Владимир: Фолиант; 2006. 250 с.
- Бондаренко А. Ф. Качественный и количественный иммунохимический анализ вирусных белков. Суздаль; 1994. 92 с.
- Лозовой Д. А., Михалишин Д. В., Доронин М. И., Шербаков А. В., Тимина А. М., Шишкова А. А. и др. Способ определения концентрации 146S-компонента вируса ящура в вирусосодержащем сырье для вакцины с применением метода обратной транскрипции-полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Патент № 2619878 Российская Федерация, МПК G01N 33/58 (2006.01), C12Q 1/68 (2006.01). ФГБУ «ВНИИЗЖ». № 2016140460/15. Заявл. 14.10.2016. Оpubл. 18.05.2017. Бюл. № 14.

- Лозовой Д. А., Михалишин Д. В., Доронин М. И., Стариков В. А., Гусева М. Н., Борисов А. В. Способ спектрометрического определения концентрации 146S частиц вируса ящура в неинaktivированном сырье для вакцины по оценке количества молекул вирусной РНК, выделенной после иммунного захвата вирионов. Патент № 2712769 Российская Федерация, МПК G01N 33/58 (2006.01), C12Q 1/68 (2006.01). ФГБУ «ВНИИЗЖ». № 2019116272. Заявл. 27.05.2019. Оpubл. 31.01.2020. Бюл. № 4.

11. Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К. Справочник биохимика: пер. с англ. М.: Мир, 1991. 544 с.

REFERENCES

- Foot and mouth disease (infection with foot and mouth disease virus). In: *OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2018; Chap. 3.1.8: 433–464. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.08_FMD.pdf.
- Ponomarev A. P., Uzyumov V. L. Foot-and-mouth disease virus: structure, biological, physical and chemical properties [Virus yashchura: struktura, biologicheskie i fiziko-himicheskie svoystva]. Vladimir: Foliant; 2006. 250 p. (in Russian)
- Nucleotide Database of National Center for Biotechnology Information (NCBI). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/?term=FM-DV+complete> (date of access: 20.02.2020).
- Martinez-Salas E., Saiz M., Sobrino F. Foot-and-Mouth Disease Virus. In: *Animal Viruses: Molecular Biology*. Ed. by T. C. Mettenleiter, F. Sobrino. Caister Academic Press; 2008; 1–38.
- Alexandersen S., Zhang Z., Donaldson A. L., Garland A. J. M. The pathogenesis and diagnosis of foot-and-mouth disease. *J. Comp. Pathol.* 2003; 129 (1): 1–36. DOI: 10.1016/s0021-9975(03)00041-0.
- Bondarenko A. F. Qualitative and quantitative immunochemical assay of viral proteins [Kachestvennyy i kolichestvennyy immunohimicheskij analiz virusnyh belkov]. Suzdal; 1994. 92 p. (in Russian)
- Lozovoy D. A., Mikhailishin D. V., Doronin M. I., Shcherbakov A. V., Timina A. M., Shishkova A. A., et al. Method for foot and mouth disease virus 146S-component concentration determination in virus-containing raw material for vaccine using reverse transcription-polymerase chain reaction method in real time mode. Patent No. 2619878 Russian Federation, Int. Cl. G01N 33/58 (2006.01), C12Q 1/68 (2006.01). FGBI "ARRIAH". No. 2016140460/15. Date of filing: 14.10.2016. Date of publication: 18.05.2017. Bull. No. 14. (in Russian)
- Lozovoy D. A., Mikhailishin D. V., Doronin M. I., Starikov V. A., Guseva M. N., Borisov A. V. Method of spectrometric determination of concentration of 146S foot-and-mouth disease virus particles in non-inactivated raw material for a vaccine by estimating the number of molecules of viral RNA released after immune capture of virions. Patent No. 2712769 Russian Federation, Int. Cl. G01N 33/58 (2006.01), C12Q 1/68 (2006.01). FGBI "ARRIAH". No. 22019116272. Date of filing: 27.05.2019. Date of publication: 31.01.2020. Bull. No. 4. (in Russian)
- Chomczynski P., Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat. Protoc.* 2006; 1 (2): 581–585. DOI: 10.1038/nprot.2006.83.
- Peirson S. N., Butler J. N. RNA extraction from mammalian tissues. In: *Circadian Rhythms. Methods in Molecular Biology*. Ed. by E. Rosato. 2007; 362: 315–327. DOI: 10.1007/978-1-59745-257-1_22.
- Dawson R. M. C., Elliott D. C., Elliott W. H., Jones K. M. Data for Biochemical Research. Oxford: Clarendon Press; 1989. 592 p.
- Glaser J. A. Validity of nucleic acid purities monitored by 260nm/280nm absorbance ratios. *Biotechniques*. 1995; 18 (1): 62–63. PMID: 7702855.

Поступила 25.09.2020

Принята в печать 04.12.2020

Received on 25.09.2020

Approved for publication on 04.12.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

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

Камалова Наталья Евгеньевна, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник центра доклинических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

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

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

Natalia Ye. Kamalova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Centre for Preclinical Studies, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

Использование специализированных добавок Sheff-Vax ACF для культивирования клеток БНК-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура

М. Н. Гусева¹, М. И. Доронин², А. А. Шишкова³, Д. В. Михалишин⁴, М. А. Шевченко⁵, Б. Л. Манин⁶

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ ORCID 0000-0002-3997-3390, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-4682-6559, e-mail: doronin@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-9936-3052, e-mail: shishkova@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0001-5436-0042, e-mail: shevchenko_ma@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0002-5263-1491, e-mail: manin_bl@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Предъявляемые в настоящее время к иммунобиологическим препаратам требования чистоты и безопасности могут быть эффективно достигнуты при использовании бессывороточных питательных сред и специализированных добавок неживотного происхождения. В данной работе показана возможность применения добавок Sheff-Vax ACF[®], производимых компанией Kerry, Inc. (Ирландия), для культивирования культуры клеток БНК-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура. Было отмечено, что к седьмому пассажу в присутствии добавки Sheff-Vax Plus PF ACF концентрация клеток и кратность прироста были выше на 40–60%, чем при внесении добавок Sheff-Vax PF ACF и Sheff-Vax Plus ACF. Не обнаружено различий в изменении водородного показателя. При репродукции вируса ящура в полученных клетках определили, что в опытных образцах с 1 млн клеток 146+755 компонентов было больше в 2,3–2,4 раза по сравнению с контролем. При культивировании с добавкой Sheff-Vax Plus PF ACF клетки имели нормальную морфологию, множество динамических выростов. В присутствии данной добавки к седьмому пассажу такие показатели, как кратность прироста и концентрация суспензии, в контрольных и опытных образцах выравнивались. Количество иммуногенных компонентов вируса ящура, репродуцированного в клетках с указанной добавкой, было выше на 20–30%, чем в клетках, выросших с применением других добавок. Установлено, что концентрация клеток линии БНК-21/SUSP/ARRIAH и кратность прироста в присутствии специализированных добавок была меньше, чем в контрольных образцах с добавлением сыворотки и гидролизата белков крови в питательную среду. При этом выход вируса с 1 млн клеток был выше в культуре, выросшей при внесении добавок Sheff-Vax ACF. Из трех исследованных добавок наиболее приемлемой для культивирования линии БНК-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура в полученных клетках была Sheff-Vax Plus PF ACF.

Ключевые слова: Добавки Sheff-Vax, кратность прироста, клетки БНК-21/SUSP/ARRIAH, вирус ящура.

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

Для цитирования: Гусева М. Н., Доронин М. И., Шишкова А. А., Михалишин Д. В., Шевченко М. А., Манин Б. Л. Использование специализированных добавок Sheff-Vax ACF для культивирования клеток БНК-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 15–21. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-15-21.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Гусева Марина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела биологического и технологического контроля (испытательной лаборатории ветпрепаратов) ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: guseva_mn@arriah.ru.

UDC 619:578.835.2:57.082.26

The use of specialised Sheff-Vax ACF supplements for BHK-21/SUSP/ARRIAH cell cultivation and FMDV reproduction

М. Н. Гусева¹, М. И. Доронин², А. А. Шишкова³, Д. В. Михалишин⁴, М. А. Шевченко⁵, Б. Л. Манин⁶

FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ ORCID 0000-0002-3997-3390, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-4682-6559, e-mail: doronin@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-9936-3052, e-mail: shishkova@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0001-5436-0042, e-mail: shevchenko_ma@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0002-5263-1491, e-mail: manin_bl@arriah.ru

SUMMARY

Compliance with the existing purity and safety requirements for immunobiologicals can be effectively achieved by the use of serum-free nutrient media and specialised supplements of non-animal origin. The paper shows the possibility of using Sheff-Vax ACF® supplements (Kerry, Inc., Ireland) for BHK-21/SUSP/ARRIAH cell cultivation and FMDV reproduction. By passage 7, cell concentration and growth rate with Sheff-Vax Plus PF ACF were found to be 40–60% higher than with Sheff-Vax PF ACF and Sheff-Vax Plus ACF. No differences were observed as regards changes in pH. During FMDV reproduction in the cells, it was found that the number of 146+75S components in the test samples containing 1 million cells was 2.3–2.4 higher compared to the controls. Cells cultured with the use of Sheff-Vax Plus PF ACF supplement had normal morphology and multiple dynamic protrusions. In the presence of this supplement, growth rate and suspension concentration in the test and control samples became equal by passage 7. The number of immunogenic components of FMDV reproduced in the cells grown using Sheff-Vax Plus PF ACF was 20–30% higher than in the cells grown using other supplements. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell concentration and growth rate in the presence of specialised supplements were found to be lower than those in the control samples with serum and blood protein hydrolysate added to the nutrient medium. The virus yield from 1 million cells was higher in the culture grown using Sheff-Vax ACF supplements. Sheff-Vax Plus PF ACF was found to be the most suitable for BHK-21/SUSP/ARRIAH cell cultivation and FMDV reproduction in the said cells out of the three tested supplements.

Keywords: Sheff-Vax supplements, growth rate, BHK-21/SUSP/ARRIAH cells, foot-and-mouth disease virus (FMDV).

Acknowledgements: The study was funded by the FGBl "ARRIAH" within the framework of "Veterinary Welfare" research work.

For citation: Guseva M. N., Doronin M. I., Shishkova A. A., Mikhailishin D. V., Shevchenko M. A., Manin B. L. The use of specialised Sheff-Vax ACF supplements for BHK-21/SUSP/ARRIAH cell cultivation and FMDV reproduction. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 15–21. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-15-21.

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

For correspondence: Marina N. Guseva, Candidate of Science (Biology), Department for Biological and Technological Control (Veterinary Product Testing Laboratory), FGBl "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: guseva_mn@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Питательная среда обеспечивает жизнедеятельность, рост и развитие клеток. Она служит источником питательных веществ, факторов роста и гормонов, а также регулирует водородный показатель (pH) и осмотическое давление в культуре.

В зависимости от потребности клеток в сыворотке выделяют несколько типов сред: основные, или базовые, (basal media) – требуют добавления 10% сыворотки; улучшенные (advanced media) – требуют добавления 1–5% сыворотки; бессывороточные (serum-free media) – не требуют добавления сыворотки [1, 2].

При культивировании клеток в присутствии сыворотки крови обнаруживается ряд существенных недостатков. Для большинства тканей данный компонент не является физиологической жидкостью, с которой они контактировали в исходной ткани, поэтому сыворотка вызывает рост фибробластов, но тормозит развитие эпидермальных кератиноцитов. Также сыворотка может быть цитотоксичной, так как содержит полиаминоксидазу, действующую на полиамины (спермин, спермидин), являющиеся продуктами секреции быстро пролиферирующих клеток (эмбриональная сыворотка содержит относительно много такого фермента). К недостаткам использования относится и значительная вариабельность состава сывороток разных партий, они могут содержать недостаточное количество специфических ростовых факторов, что вызывает необходимость добавления их к культурам клеток. Сыворотка часто бывает контаминирована вирусами, многие из которых хотя и не опасны для культуры клеток, но являются дополнительным фактором, который невозможно контролировать [2].

Требования чистоты и безопасности, предъявляемые в настоящее время к иммунобиологическим препаратам, могут быть эффективно достигнуты только

при использовании бессывороточных технологий. Поэтому в последние два десятилетия ведутся интенсивные исследования по разработке бессывороточных питательных сред и специализированных добавок неживотного происхождения, рецептуры которых являются предметом интеллектуальной собственности компаний и недоступны для широкого использования. Такие среды имеют определенные преимущества: улучшение воспроизводимости результатов опыта вследствие высокой стабильности состава среды; снижение риска контаминации культуры вирусами, грибами, микоплазмами; облегчение очистки от продуктов клеточного метаболизма; снижение влияния дополнительных белков на результаты биологических исследований; отсутствие цитотоксичности [3, 4].

Компания Kerry, Inc. (Ирландия) разработала несколько видов специализированных добавок Sheff-Vax ACF®, содержащих в своем составе производные молочных продуктов, яиц, пшеницы, арахиса, продукты переработки рыбы, моллюсков и др., а также различающихся минеральным и аминокислотным составом, концентрацией факторов роста и долей интактных белков.

Целью работы было исследование возможности применения специализированных бессывороточных добавок Sheff-Vax ACF для выращивания суспензионной линии клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клеточная линия. В работе применяли перевиваемую суспензионную клеточную линию почки новорожденного сирийского хомячка BHK-21/SUSP/ARRIAH [5].

Специализированные добавки. Для исследования использовали добавки неживотного происхождения Sheff-Vax ACF, произведенные компанией

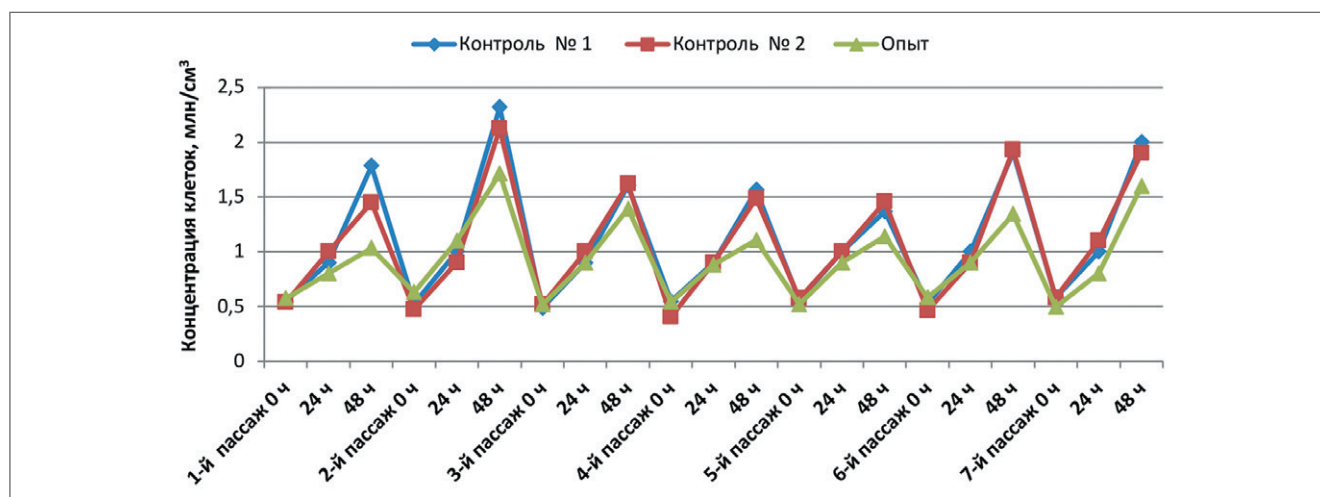


Рис. 1. Динамика изменения концентрации клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1)

Fig. 1. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell concentration dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax Plus PF ACF supplement (No. 1)

Kerry, Inc. (Ирландия): Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1); Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 2); Sheff-Vax Plus ACF (№ 3).

Специализированные добавки применяли в концентрации 10 г/дм³ и добавляли в питательную среду для выращивания клеток.

Питательная среда для выращивания клеток была изготовлена согласно «Промышленному регламенту на производство вакцины против ящура сорбированной моно- и поливалентной (из вируса, выращенного в клетках BHK-21)», но без добавления сыворотки.

Сыворотка крупного рогатого скота. В опытах использовали фетальную сыворотку фирмы Serana (Германия) в концентрации 5%.

Кратность прироста (КП) определяли как отношение конечной концентрации клеток и исходной в пределах одного пассажа за 48 ч.

Адаптация линии клеток. На начальном этапе адаптации клетки были взяты из суспензии, находящейся в питательной среде с 5% сыворотки крови. Процесс адаптации клеточной линии BHK-21/SUSP/ARRIAH проводили на протяжении 7 последовательных пассажей. Через 24 ч после пересева производили корректировку pH 7,5%-м раствором гидрокарбоната натрия.

В качестве контролей использовали: № 1 – среду с постоянным содержанием сыворотки (5%), № 2 – среду со снижением процента сыворотки в 2 раза на каждом следующем пассаже клеток.

В качестве опытной использовали среду со специализированной добавкой Sheff-Vax ACF в концентрации 10 г/дм³. В опытной среде количество сыворотки также снижали в 2 раза на каждом следующем пассаже клеток.

Вязкость. Для создания необходимой вязкости использовали полимерный компонент Pluronic F-68 в конечной концентрации 0,125%, который добавляли со 2-го пассажа в контроль № 2 и опытные образцы.

Заражение клеток вирусом ящура. Заражение суспензий клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH производили культуральным вирусом ящура штамма Азия-1/Таджикистан/2011 в дозе 1,0 ТЦД₅₀/кл. Суспензию клеток 7-го пассажа сливали в роллеры, при необходимости

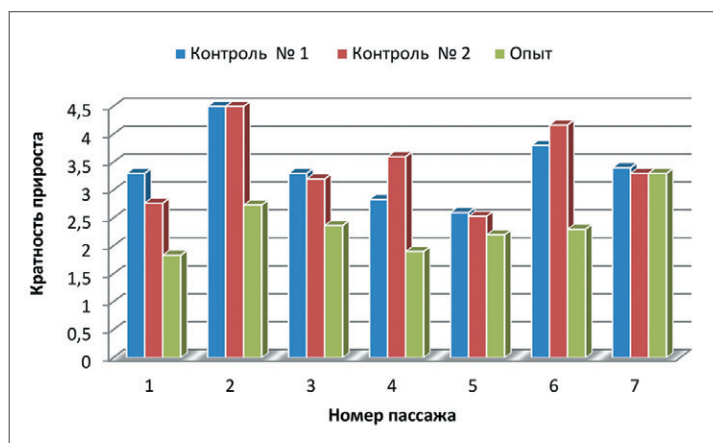


Рис. 2. Динамика изменения кратности прироста клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1)

Fig. 2. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell growth rate dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax Plus PF ACF supplement (No. 1)

разбавляли средой до объема 400–600 см³ и концентрации клеток $1,5 \times 10^6$ кл./см³. Репродукция вируса ящура проходила на протяжении 16 ч, после чего вирус инактивировали и проводили очистку суспензии.

Цитохимическое изучение морфологии клеток линии BHK-21/SUSP/ARRIAH проводили с помощью люминесцентного микроскопа МЛ-2Б. Нативные препараты окрашивали 0,001%-м раствором акридинового оранжевого. Фотографирование проводили камерой Leica на микроскопах Zeiss, Olympus, Leica.

Инактивация и очистка антигена вируса. Инактивацию вируса ящура проводили с помощью 15–20%-го раствора аминоктилэтиленимина. Для очистки суспензии инактивированного антигена от балластных белков, в том числе неструктурных протеинов возбудителя ящура, применяли 0,007%-й раствор «Полисепта» (полигексаметиленгуанидина) с последующей декантацией надосадочной жидкости.

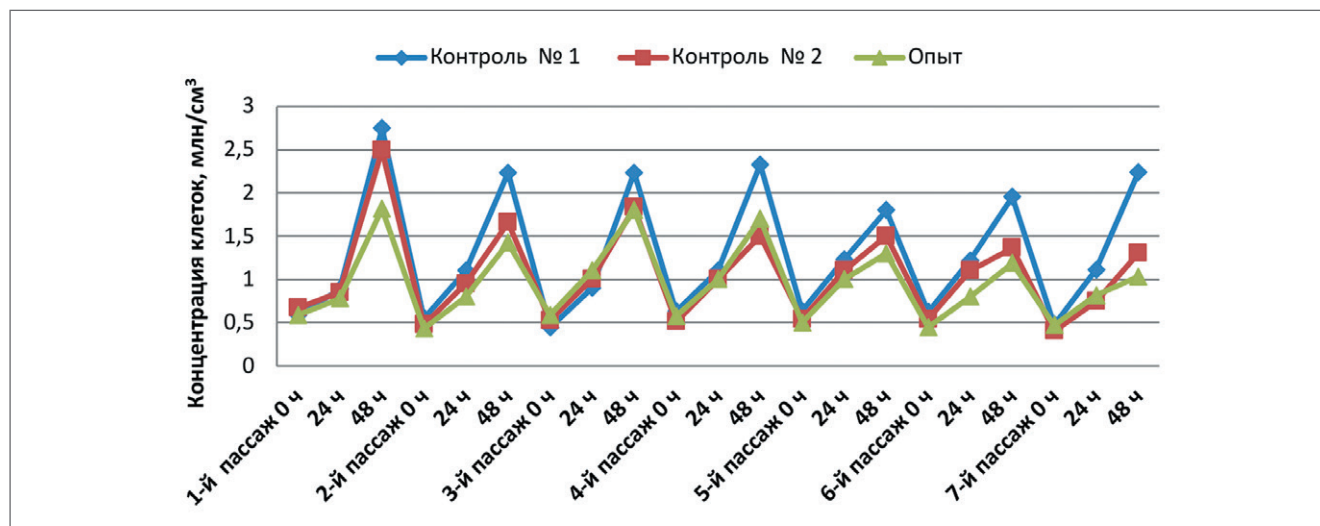


Рис. 3. Динамика изменений концентрации клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax PF ACF (№ 2)

Fig. 3. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell concentration dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax PF ACF supplement (No. 2)

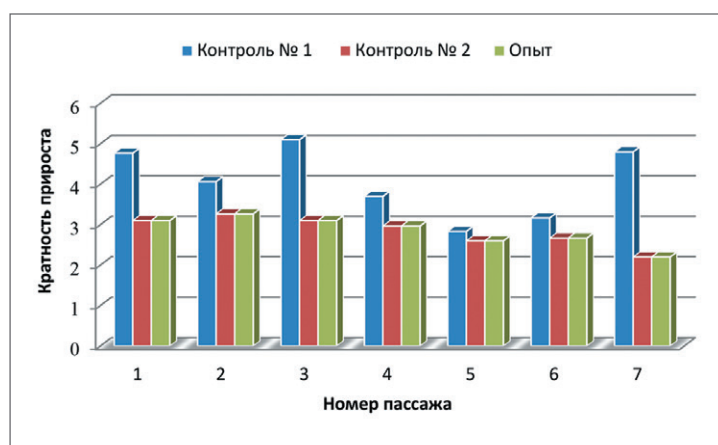


Рис. 4. Динамика изменений кратности прироста клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax PF ACF (№ 2)

Fig. 4. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell growth rate dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax PF ACF supplement (No. 2)

Статистическая обработка данных. Цифровой материал статистически обрабатывали на персональном компьютере общепринятыми методами вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе работы исследовали динамику изменения концентрации клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH на разных пассажах при использовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1). На рисунках 1 и 2 представлены результаты данного исследования.

Установили, что концентрация клеток в контрольных образцах в конце разных пассажей варьировала от $1,45 \pm 0,04$ млн/см³ до $2,32 \pm 0,29$ млн/см³. В опытных образцах концентрация клеток варьировала

от $1,03 \pm 0,03$ млн/см³ в 1-м пассаже до $1,60 \pm 0,05$ млн/см³ в 7-м пассаже. Кратность прироста клеток в опытных образцах на протяжении первых 6 пассажей была ниже контроля в 1,18–1,80 раза.

Внесение добавки не влияло на pH среды при культивировании. Водородный показатель изменялся во всех пробах одинаково: в пределах 6,84–7,11 в начале пассажа и уменьшался до 6,34–6,48 через 48 ч.

При исследовании специализированной добавки Sheff-Vax PF ACF (№ 2) установлено, что концентрация клеток через 48 ч после посева в контрольных пробах с постоянным содержанием сыворотки варьировала от $2,74 \pm 0,08$ до $1,80 \pm 0,10$ млн/см³, а в последнем, 7-м пассаже, составляла $2,24 \pm 0,18$ млн/см³. При этом кратность прироста клеток на разных пассажах находилась в диапазоне 2,83–5,10 (рис. 3, 4). В контрольных образцах с понижением процента сыворотки в питательной среде и в опытных образцах со специализированной добавкой концентрация клеток в конце пассажей была одинаковой, но к 7-му пассажу снизилась в 1,4–1,9 раза, когда количество сыворотки уменьшалось до 0,075%. Кратность прироста в контрольных образцах № 2 и в опыте также была одинаковой: 2,2–3,1 в зависимости от пассажа.

Внесение добавки не влияло на pH среды при культивировании.

При исследовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus ACF (№ 3) было установлено, что на 7-м пассаже в опытных образцах при переходе на почти полностью бессывороточную среду концентрация клеток была $1,0 \pm 0,2$ млн/см³, в контроле № 1 – $2,2 \pm 0,2$ млн/см³, а в контроле № 2 – $1,20 \pm 0,06$ млн/см³. При этом кратность прироста клеток в опытных образцах составляла $2,33 \pm 0,03$, в двух контрольных образцах – $3,57 \pm 0,64$ и $2,00 \pm 0,53$ (рис. 5, 6). В контроле с постоянным количеством сыворотки концентрация клеток через 48 ч после посева в разных пассажах всегда находилась в пределах 2,06–2,38 млн/см³; в образцах с понижением количества сыворотки с увеличением количества пассажей уменьшалась с $2,32 \pm 0,18$

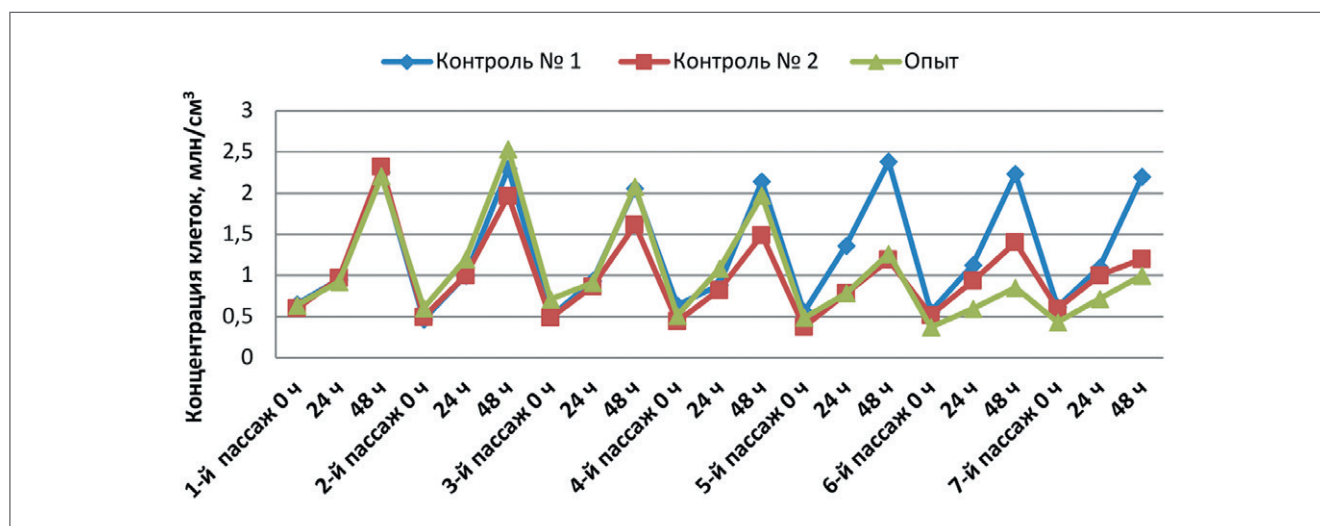


Рис. 5. Динамика изменений концентрации клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus ACF (№ 3)

Fig. 5. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell concentration dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax Plus ACF supplement (No. 3)

до $1,20 \pm 0,06$ млн/см³. При этом кратность прироста в контрольных образцах с постоянным количеством сыворотки на разных пассажах была 3,4–5,0; в контроле с уменьшением процента сыворотки в первых 5 пассажах составляла 3,33–4,00, а затем снизилась до 2,0 к 7-му пассажу. В опытной среде с добавкой № 3 после 4-го пассажа также наблюдали снижение кратности прироста клеток в 1,6–1,8 раза.

Внесение данной добавки не влияло на pH среды при культивировании.

При репродукции вируса ящура в полученных клетках определили, что в контрольных образцах с постоянным содержанием сыворотки концентрация иммуногенных компонентов 146+75S была меньше, чем в контрольных образцах с понижением процента сыворотки в 1,57; 1,87; 1,60 раза и в 2,4; 2,3; 2,4 раза меньше, чем в опытных образцах (см. табл.). Выявлено, что различия существенны ($p < 0,05$).

Для изучения морфологии клеток суспензию 7-го пассажа высевали в матрасы объемом 50 см³ в концентрации 100 тыс. кл./см³ и проводили цитохимические исследования на 8-м пассаже. Клетки, выращенные в присутствии добавки № 1, были частично адгезированы. Седиментированная популяция имела нормальную морфологию клеток, на которых наблюдали множество динамических выростов, что, в свою очередь, свидетельствовало о нормальной физиологической активности (рис. 7).

Отмечено, что в адаптированных к добавке № 2 клетках на 8-м пассаже происходила частичная седиментация без адгезии. С самого начала культивирования отмечали агрегацию популяций клеток, которая достигала максимума на 2-е сутки. Пролиферации культуры не наблюдалось (рис. 8А).

При использовании добавки № 3 (рис. 8В) происходила индуцированная агрегация клеток до колоний значительного размера (до 100 клеток). Агрегированные клетки были неправильной сферической формы, в них не было признаков трофической активности, т. е. клетки не делились, а только «переживали».

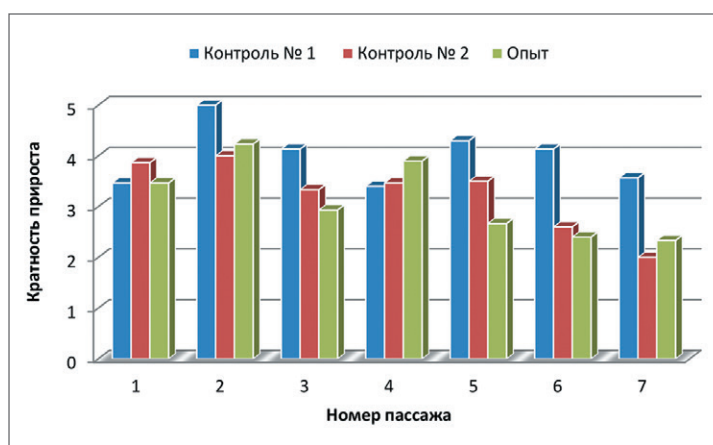


Рис. 6. Динамика изменений кратности прироста клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH при использовании специализированной добавки Sheff-Vax Plus ACF (№ 3)

Fig. 6. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell growth rate dynamics in the presence of specialised Sheff-Vax Plus ACF supplement (No. 3)

Таблица
Репродукция вируса ящура в клетках, выращенных в присутствии специализированных добавок Sheff-Vax ACF

Table
FMDV reproduction in cells grown using specialised Sheff-Vax ACF supplements

Наименование добавки	Концентрация 146+75S, мкг/см ³ (в пересчете с $1,0 \times 10^6$ кл./см ³)		
	контроль № 1	контроль № 2	опытная группа
Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1)	$0,58 \pm 0,09$	$0,91 \pm 0,10$	$1,40 \pm 0,10$
Sheff-Vax PF ACF (№ 2)	$0,47 \pm 0,07$	$0,88 \pm 0,08$	$1,08 \pm 0,09$
Sheff-Vax Plus ACF (№ 3)	$0,50 \pm 0,05$	$0,80 \pm 0,08$	$1,20 \pm 0,09$
$p < 0,05$			

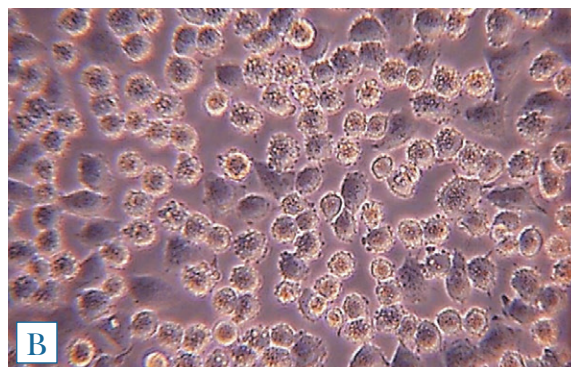
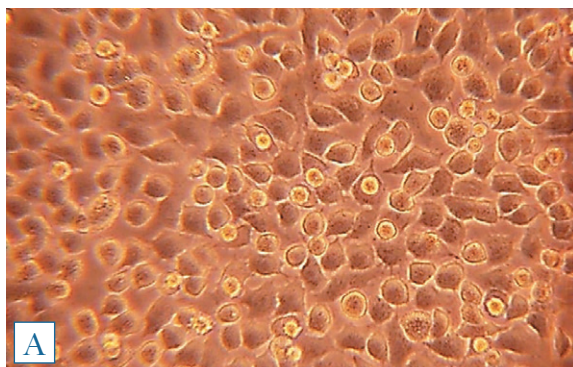


Рис. 7. Клетки BHK-21/SUSP/ARRIAH, адаптированные к специализированной добавке Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1).

А – клетки, выращенные в присутствии сыворотки (контроль),
В – клетки, выращенные в присутствии добавки № 1 (опыт)

Fig. 7. BHK-21/SUSP/ARRIAH cells adapted to specialised Sheff-Vax Plus PF ACF supplement (No. 1).

A – cells grown in the presence of serum (control), B – cells grown in the presence of supplement 1 (test)

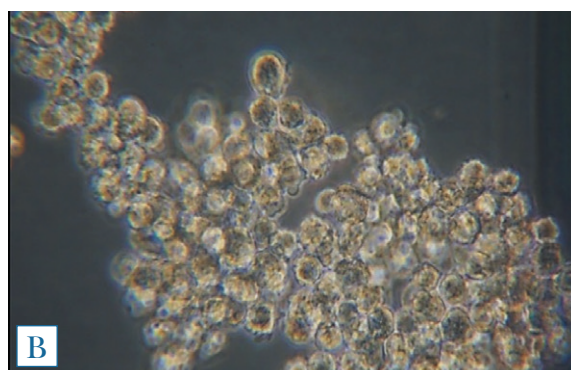
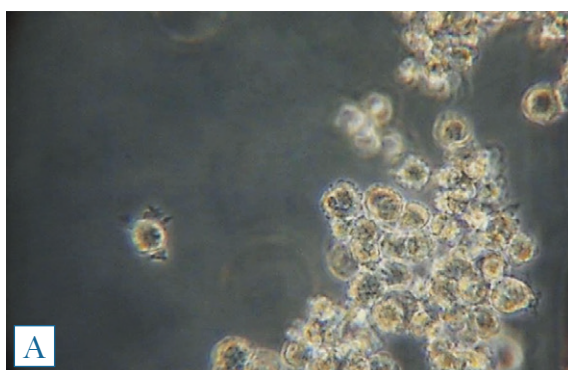


Рис. 8. Клетки BHK-21/SUSP/ARRIAH, адаптированные к специализированным добавкам:

А – Sheff-Vax PF ACF (№ 2) и В – Sheff-Vax Plus ACF (№ 3)

Fig. 8. BHK-21/SUSP/ARRIAH cells adapted to specialised supplements:

A – Sheff-Vax PF ACF (No. 2) and B – Sheff-Vax Plus ACF (No. 3)

В контроле с сывороткой крови (рис. 7А) наблюдалась 100%-я конфлюэнция, клетки были адгезированы на 60–80%, имели адаптивные признаки монослойной культуры, часть из них принимали веретенообразную форму.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Была проведена адаптация линии клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH к специализированным добавкам Sheff-Vax ACF (Kerry, Inc., Ирландия). В присутствии добавки Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1) к 7-му пассажу концентрация клеток и кратность прироста были выше на 40–60%, чем при внесении других добавок. В опытных и контрольных образцах концентрация клеток и кратность прироста в присутствии добавки № 1 были равными: $1,6 \pm 0,2$ млн/см²; $1,90 \pm 0,18$ и $2,0 \pm 0,2$ млн/см² соответственно, различия незначительны. При внесении других добавок клетки росли хуже, чем в контрольных образцах – концентрация клеток и кратность прироста была ниже в 2,0–2,2 раза.

Различий в изменении водородного показателя в процессе исследования не установлено.

При репродукции вируса ящура в полученных клетках определили, что в опытных образцах с 1 млн клеток концентрация 146+75S компонентов была в 2,4; 2,3;

2,4 раза больше по сравнению с контролем № 1 и в 1,54; 1,23; 1,50 раза – по сравнению с контролем № 2 (различия существенны, $p < 0,05$).

Клетки в присутствии добавки Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1) имели нормальную морфологию, множество динамических выростов. К 7-му пассажу выравнивалась кратность прироста и концентрация клеток в суспензии контрольных и опытных образцов. Количество иммуногенных компонентов вируса ящура в образцах с добавкой № 1 было выше на 20–30%, чем в клетках, выросших в присутствии добавок № 2 и № 3.

Установлено, что концентрация клеток линии BHK-21/SUSP/ARRIAH и кратность прироста при культивировании с добавками Sheff-Vax ACF была меньше, чем в контрольных образцах в присутствии сыворотки и гидролизата белков крови. Однако выход вируса с 1 млн клеток был выше в клетках, выросших с применением специализированных добавок.

Таким образом, бессывороточные добавки Sheff-Vax ACF компании Kerry пригодны для культивирования клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH и репродукции вируса ящура. Более высокие результаты по накоплению иммуногенных компонентов вируса были получены с добавкой Sheff-Vax Plus PF ACF (№ 1).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток: практическое руководство. Пер. Ю. Н. Хомякова, Т. И. Хомяковой. М.: Лаборатория знаний; 2018. 760 с.
2. Шаманская Т. В., Осипова Е. Ю., Пурбуева Б. Б., Устюгов А. Ю., Астрелина Т. А., Яковлева М. В., Румянцев С. А. Культивирование мезенхимальных стволовых клеток *ex vivo* в различных питательных средах (обзор литературы и собственный опыт). *Онкогематология*. 2010; 5 (3): 65–71. eLIBRARY ID: 15559360.
3. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии). Под ред. Л. П. Дьяконова; Рос. акад. с.-х. наук. 2-е изд. доп. М.: Спутник+; 2009. 652 с.
4. Трошкова Г. П., Мартынец Л. Д., Кирова Е. В., Сумкина Т. П., Юдин А. В. Бессывороточная питательная среда для культивирования клеток Vero. *Фундаментальные исследования*. 2005; 5: 94. eLIBRARY ID: 10435525.
5. Лозовой Д. А., Гусева М. Н., Михалишин Д. В., Доронин М. И., Манин Б. Л., Шишкова А. А. и др. ВНК-21/SUSP/ARRIAH – перевиваемая суспензионная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вирусов ящура, бешенства, паратифа-3, болезни Ауески при производстве противовирусных вакцин, а также для изготовления диагностических и профилактических ветеринарных биопрепаратов. Патент 2722671 Российская Федерация, МПК C12N 5/10 (2006.01). ФГБУ «ВНИИЗЖ». № 2019131190. Заявл. 01.10.2019. Опубл. 02.06.2020. Бюл. № 16. Режим доступа: https://patents.s3.yandex.net/RU2722671C1_20200602.pdf.

REFERENCES

1. Freshney R. Ian. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications. 7th ed. NY: Wiley-Blackwell; 2015. 736 p.
2. Shamanskaya T. V., Osipova Ye. Yu., Purbueva B. B., Ustyugov A. Yu., Astrelina T. A., Yakovleva M. V., Rummyantsev S. A. *Ex vivo* expansion of mesenchymal stem cells in different culture conditions (the literature review and own experience). *Oncohematology [Onkogematologiya]*. 2010; 5 (3): 65–71. eLIBRARY ID: 15559360. (in Russian)
3. Animal cell in culture (methods and implementation in biotechnology) [Zhivotnaya kletka v kul'ture (metody i primeneniye v biotekhnologii)]. Ed. by L. P. Dyakonov; Russian Academy of Agricultural Sciences. 2nd ed., enlarged. M.: Sputnik+; 2009. 652 p. (in Russian)
4. Troshkova G. P., Martynets L. D., Kirova E. V., Sumkina T. P., Yudin A. V. The serum-free medium formulation for the growth of Vero cell line. *Fundamental Research*. 2005; 5: 94. eLIBRARY ID: 10435525. (in Russian)
5. Lozovoy D. A., Guseva M. N., Mikhilishin D. V., Doronin M. I., Manin B. L., Shishkova A. A., et al. BHK-21/SUSP/ARRIAH – continuous suspension subline of newborn syrian hamster kidney cells, intended for reproduction of foot-and-mouth disease viruses, rabies, parainfluenza-3, Aujeszky's disease in producing antiviral vaccines, as well as for making diagnostic and preventive veterinary biopreparations. Patent No. 2722671 Russian Federation, IPC C12N 5/10 (2006.01). FGBI "ARRIAH". Application 2019131190. Submitted on 01.10.2019. Published on 02.06.2020. Bulletin No. 16. Available at: https://patents.s3.yandex.net/RU2722671C1_20200602.pdf. (in Russian)

Поступила 28.09.2020

Принята в печать 02.12.2020

Received on 28.09.2020

Approved for publication on 02.12.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гусева Марина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела биологического и технологического контроля (испытательной лаборатории ветпрепаратов) ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Шишкова Анжела Алексеевна, кандидат ветеринарных наук, главный технолог отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Шевченко Максим Александрович, ведущий ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Манин Борис Леонидович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник сектора культуры клеток отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Marina N. Guseva, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Department for Biological and Technological Control (Veterinary Product Testing Laboratory), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

Anzhela A. Shishkova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Chief Technologist, Innovation Department, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

Maksim A. Shevchenko, Leading Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Boris L. Manin, Candidate of Sciences (Biology), Leading Researcher, Sector for Cell Culture, Innovation Department, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-22-28
УДК 619:616.98:578.824.9:636.92:615.371

Отработка режимов инактивации вируса геморрагической болезни кроликов 1-го и 2-го типов

Е. Д. Куникова¹, Н. В. Мороз², М. А. Долгова³, Л. В. Малахова⁴, И. А. Комаров⁵

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

⁴ ФГБОУ ВО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия» (ФГБОУ ВО Костромская ГСХА), пос. Караваево, Костромская обл., Россия

¹ ORCID 0000-0003-2384-8162, e-mail: kunikova@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-9672-8594, e-mail: moroz@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-8061-1116, e-mail: dolgova@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0001-8011-5657, e-mail: van@ksaa.edu.ru

⁵ ORCID 0000-0002-2084-4484, e-mail: komarov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Цель настоящих исследований состояла в подборе режимов инактивации вируса геморрагической болезни кроликов 1-го (RHDV1) и 2-го (RHDV2) типов для использования полученных антигенов в составе инактивированных вакцин и диагностикумов. Изучали инактивирующее действие аминоэтилэтиленимина и β -пропиолактона в различных концентрациях в зависимости от времени экспозиции и температуры. Оценка инактивирующего эффекта используемого соединения соответственно принятым условиям испытания (концентрация, температура и время экспозиции) проводили на группе кроликов. Каждому животному делали внутримышечную инъекцию пробы инактивируемого материала в объеме 1 см³. По истечении максимального интервала экспозиции аналогичным образом испытывали пробу контрольного образца вирусного материала, который содержали при тех же условиях без добавления инактианта. В опытных и контрольных группах повреждающее действие оценивали с помощью показателя летальности: $L = m/n$, где m – число погибших животных; n – общее количество кроликов в группе для испытания данной пробы инактивируемого материала. Посмертный диагноз подтверждали исследованием гомогената ткани печени кроликов на наличие соответствующих антигенов при помощи иммуноферментного анализа. Установили, что аминоэтилэтиленимин и β -пропиолактон не одинаково воздействовали на исследуемые варианты вируса. В целях максимального сохранения антигенных структур вируса считали, что оптимальными условиями инактивации будут следующие: для RHDV1 – аминоэтилэтиленимином в концентрации 0,3% при 37 °C и экспозиции 72 ч или β -пропиолактоном в концентрации 0,1–0,3% при 25–37 °C и экспозиции 24–48 ч; для RHDV2 – аминоэтилэтиленимином в концентрации 1,0% при 37 °C и экспозиции 72 ч или β -пропиолактон в концентрации 0,3% при 25 °C и экспозиции 24 ч.

Ключевые слова: Вирусная геморрагическая болезнь кроликов, инактивированная вакцина, аминоэтилэтиленимин, β -пропиолактон, инактивация вируса геморрагической болезни кроликов.

Благодарность: Работа выполнена за счет средств по государственному контракту № 92/19 по теме «Выполнение научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ по разработке ассоциированной вакцины против миксоматоза, пастереллеза и вирусной геморрагической болезни кроликов 1 и 2 серотипов».

Для цитирования: Куникова Е. Д., Мороз Н. В., Долгова М. А., Малахова Л. В., Комаров И. А. Отработка режимов инактивации вируса геморрагической болезни кроликов 1-го и 2-го типов. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 22–28. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-22-28.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Куникова Екатерина Дмитриевна, аспирант, технолог лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: kunikova@arriah.ru.

UDC 619:616.98:578.824.9:636.92:615.371

Optimization of RHDV type 1 and 2 inactivation modes

E. D. Kunikova¹, N. V. Moroz², M. A. Dolgova³, L. V. Malakhova⁴, I. A. Komarov⁵

^{1,2,3,5} FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

⁴ FSBEI HE "Kostroma State Agricultural Academy" (FSBEI HE Kostroma SAA), Karavaevo, Kostroma Oblast, Russia

¹ ORCID 0000-0003-2384-8162, e-mail: kunikova@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-9672-8594, e-mail: moroz@arriah.ru

³ ORCID 0000-0001-8061-1116, e-mail: dolgova@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0001-8011-5657, e-mail: van@ksaa.edu.ru

⁵ ORCID 0000-0002-2084-4484, e-mail: komarov@arriah.ru

SUMMARY

The purpose of these studies was to optimize RHDV type 1 and 2 (RHDV1 and RHDV2) inactivation modes to use the obtained antigens in inactivated vaccines and diagnostics. The inactivating effect of aminoethylethylenimine and β -propiolactone was studied in different concentrations in correlation with the exposure time and temperature. The correlation between the inactivating effect of the compound used and the accepted test conditions (concentration, temperature, and exposure time) was studied on a group of rabbits, each of which was injected intramuscularly with 1 cm³ of the inactivated material sample. At the end of the maximum exposure interval, a control sample of the viral material, kept under the same conditions without any inactivant added was similarly tested. Lethality was considered to evaluate the damaging action in the test and control groups: $L = m/n$, where m is the number of dead animals; n is the total number of rabbits in the group for testing of the inactivated material sample. The postmortem diagnosis was confirmed by testing the rabbit liver tissue homogenate for relative antigens using ELISA. It was found that aminoethylethylenimine and β -propiolactone did not have the same effect on the studied variants of the virus. In order to preserve at maximum the antigenic structures of the virus, the following inactivation modes were considered to be optimal: for RHDV1 – aminoethylethylenimine at a concentration of 0.3% at 37 °C, exposure time – 72 hours, or β -propiolactone at a concentration of 0.1–0.3% at 25–37 °C, exposure time – 24–48 hours; for RHDV2 – aminoethylethylenimine at a concentration of 1% at 37 °C, exposure time – 72 hours, or β -propiolactone at a concentration 0.3% at 25 °C, exposure time – 24 hours.

Keywords: Viral hemorrhagic disease of rabbits, inactivated vaccine, aminoethylethylenimine, β -propiolactone, inactivation of rabbit hemorrhagic disease virus.

Acknowledgements: The work was carried out at the expense of funds under the state contract No. 92/19 on the topic “Research and Development of a combined vaccine against myxomatosis, pasteurellosis and viral hemorrhagic disease of rabbits, serotypes 1 and 2”.

For citation: Kunikova E. D., Moroz N. V., Dolgova M. A., Malakhova L. V., Komarov I. A. Optimization of RHDV type 1 and 2 inactivation modes. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 22–28. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-22-28.

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

For correspondence: Ekaterina D. Kunikova, Post-Graduate Student, Technologist, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI “ARRIAH”, 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: kunikova@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Геморрагическая болезнь кроликов (RHD) – высококонтагиозное заболевание, характеризующееся острым течением, явлениями геморрагического диатеза во всех органах и тканях и высокой летальностью (80–100%) [1]. Возбудителем болезни является РНК-содержащий вирус, который относится к семейству *Caliciviridae*, роду *Lagovirus*, генетически связан с вирусом синдрома европейского бурого зайца [2]. Вирионы диаметром 20–40 нм имеют сферическую форму, обладают гемагглютинирующими свойствами [3, 4].

Впервые RHD была зарегистрирована в Китае в 1984 г. в провинции Цзянсу у ангорских кроликов, завезенных из ФРГ. Затем заболевание получило распространение в странах Европы и Азии [5]. По данным Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), на 2020 г. неблагополучными по RHD признаны Дания, Бенин, Исландия, Канада, США, Мексика, Финляндия.

Считается, что в природе неопределенно долгое время циркулировали слабоvirulentные варианты вируса RHD. Однако в последние десятилетия произошли существенные эволюционные изменения возбудителя, которые выразились в значительном увеличении его вирулентности [3].

В 2010 г. во Франции был выделен вирус RHD типа 2 (RHDV2). Средняя гомология участка генома, кодирующего основной капсидный белок VP60, нового варианта вируса и известных штаммов данного возбудителя (RHDV1) составила 87%. При этом, что наиболее важно, вакцины на основе RHDV1 не были эффективны [6].

В России к 2018 г. было зарегистрировано несколько случаев болезни, обусловленных RHDV2 [7]. Характерным признаком, отличающим новый тип вируса от RHDV1, является способность поражать молодняк кроликов, не достигший 2-недельного возраста [8].

На сегодняшний день на рынке ветеринарных препаратов в Российской Федерации представлены вакцины против RHD, изготовленные из штаммов, относящихся к типу 1 [9]. Это определило цель настоящих исследований, а именно – подбор режимов инактивации вируса геморрагической болезни кроликов 1-го и 2-го типов для использования полученных антигенов в составе инактивированных вакцин и диагностикумов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы. В исследования были включены следующие штаммы вируса: RHDV1 – ВГБК1/ВНИИЗЖ (инфекционный титр $3,00 \pm 0,25 \lg \text{ЛД}_{50}/\text{см}^3$); RHDV2 – ВГБК2/ВНИИЗЖ (инфекционный титр $4,00 \pm 0,25 \lg \text{ЛД}_{50}/\text{см}^3$).

Вирусосодержащий материал. Для исследований использовали 10%-ю тканевую суспензию (вес/объем), полученную из ткани печени кроликов, инфицированных RHDV1 и RHDV2. Гомогенат готовили на физиологическом растворе (0,9%-й раствор NaCl). Диспергирование выполняли на лабораторном измельчителе тканей при 10 000 об/мин в течение 10 мин. Тканевой гомогенат хранили в холодильнике при минус 20 °C. Перед использованием в эксперименте в размороженный материал вносили хлороформ (2% по объему) и высокомолекулярный полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (0,1% по объему), активно перемешивали и центрифугировали при 500 g в течение 20 мин. Для дальнейшей работы использовали надосадочную жидкость.

Реакция гемагглютинации. Определение гемагглютинирующей активности вируса проводили в соответствии с методикой, изложенной в Руководстве МЭБ по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных [1]. Гемагглютинирующая активность приготовленного вирусосодержащего материала составляла не менее 1:1280–1:2560 ГАЕ.

Иммуноферментный анализ (ИФА). Наличие антигена вируса RHD определяли с использованием набора INgezim RHDV DAS (Ingenasa, Испания) в соответствии с прилагаемой инструкцией [10].

Животные. Для проведения исследований использовали 360 невакцинированных против ВГБК кроликов породы советская шиншилла (в возрасте 45 суток, живой массой 1,0–1,5 кг) из хозяйств, благополучных по инфекционным болезням. Животных содержали группами в изоляторах с автономными системами поения и кормления.

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 по охране животных, используемых в научных целях.

Для эвтаназии кроликов использовали пары трихлорметана.

Инактиванты. Для инаktivации вируссодержащих материалов использовали аминоэтилэтиленмин в виде 15%-го водного раствора (АЭЭИ, ООО НПП «Биохимсервис», Россия) и β -пропиолактон (Acros Organics, США).

Инаktivация. β -пропиолактон перед использованием разбавляли фосфатно-буферным раствором до концентрации 10%. Предварительно pH рабочего раствора АЭЭИ с помощью уксусной кислоты доводили до 8,2–8,3. Подготовленные инаktivанты добавляли в вируссодержащий материал до заданных конечных концентраций. Процедуру инаktivации проводили при 25 и 37 °C. Через заданные интервалы времени производили отбор проб для определения полноты инаktivации вируса. При тех же условиях содержали образец вируссодержащего материала без добавления инаktivанта (контроль). Пробы контрольного образца отбирали по истечении наибольшего интервала экспозиции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценку различий инаktivирующего эффекта исследуемых соединений в зависимости от концентрации, температуры и времени экспозиции проводили на 360 кроликах. Каждая опытная группа состояла из трех животных, каждому из которых делали внутримышечную инъекцию пробы инаktivированного материала в объеме 1 см³. По истечении наибольшего интервала экспозиции аналогичным образом испытывали пробу контрольного образца.

В течение 10 суток за подопытными животными вели клинические наблюдения. Регистрировали летальность, специфичность которой подтверждали по следующим признакам: наличие кровавых или серозных пенистых экссудатов вокруг носа; увеличение печени, дистрофические изменения в ней; мраморность легких; дряблость почек, их цвет (от светло- до темно-красного), наличие на капсуле точечных или полосчатых кровоизлияний с нечетко выраженными краями; гиперемия и геморрагии в кишечнике, наиболее выраженные на вершинах складок [11].

В опытных и контрольных группах повреждающее действие оценивали по показателю летальности

$L = m/n$, где m – число погибших животных; n – общее количество кроликов в группе, сформированной для испытания данной пробы инаktivируемого материала.

Посмертный диагноз дополнительно подтверждали исследованием гомогената печени кроликов на наличие антигена RHDV при помощи ИФА. Полноту инаktivации исследуемых материалов подтверждали по отсутствию антигена RHDV в органах выживших кроликов через 10 суток после введения тестируемых образцов инаktivируемого материала.

Полученные результаты оценки инаktivирующего эффекта используемых соединений представлены в таблице.

В результате проведенного исследования установили, что:

- штамм RHDV1 оказался высокочувствителен к β -пропиолактону. Образцы, полученные после воздействия всех испытанных концентраций инаktivанта при всех условиях экспозиции, не содержали инфекционный вирус ($L = 0$);

- штамм RHDV1 показал определенную чувствительность к АЭЭИ. Полную инаktivацию возбудителя наблюдали при всех температурных режимах только после воздействия концентраций свыше 0,2%;

- штамм RHDV2 продемонстрировал определенную чувствительность ко всем испытанным концентрациям β -пропиолактона. Однако для полной инаktivации возбудителя при 25 °C требовались концентрация не менее 0,3% и экспозиция не менее 24 ч. При 37 °C, независимо от времени экспозиции, все испытанные концентрации обеспечивали полную инаktivацию возбудителя.

- штамм RHDV2 показал относительно высокую устойчивость к воздействию АЭЭИ. При 25 °C и концентрациях инаktivанта до 1,0% возбудитель полностью сохранял биологическую активность практически на всех временных интервалах. Исключение составил интервал в 72 ч, где показатель летальности при концентрации 0,45% имел значение $L = 2/3$. Полную инаktivацию вируса при 25 °C наблюдали после воздействия 1,0%-го инаktivанта в течение 72 ч. При 37 °C полная инаktivация вируса происходила при концентрации АЭЭИ 1,0%, независимо от времени экспозиции.

Следует отметить, что все контрольные образцы вируссодержащих материалов обоих штаммов при всех испытанных условиях экспозиции сохраняли биологическую активность. Это исключает возможность спонтанной инаktivации вируса в процессе эксперимента.

Результаты исследований гомогената ткани печени, полученной от погибших кроликов экспериментальных и контрольных групп, показали наличие антигена RHDV, что подтвердило специфическую гибель животных. Анализ гомогената ткани печени выживших кроликов доказал полную инаktivацию вируса.

ОБСУЖДЕНИЕ

Возникновение нового варианта вируса, имеющего существенные антигенные отличия, всегда является значимым событием для данной экологической ниши. Этот феномен наглядно демонстрирует эпизоотическая ситуация в Австралии, где в мае 2015 г. был обнаружен RHDV2. Ретроспективные исследования показали, что вирусы данного семейства имеют скорость генетической эволюции $(2,8–5,4) \times 10^{-3}$ замены в год, которые происходят равномерно как в неструктурных,

Таблица

Оценка полноты инактивации RHDV1 и RHDV2 соответственно концентрациям химических соединений, температуре и времени экспозиции

Table

Correlation between RHDV1 and RHDV2 inactivation completeness and the tested concentrations, temperature, and exposure time

Летальность кроликов после инъекции вирусной суспензии с добавлением β-пропиолактона							
тип вируса	D, %	25 °C			37 °C		
		24 ч	48 ч	72 ч	24 ч	48 ч	72 ч
RHDV1	0,10	0/3*	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	0,20	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	0,30	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	контроль**	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
RHDV2	0,10	1/3	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3
	0,20	1/3	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3
	0,30	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	контроль	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3

Летальность кроликов после инъекции вирусной суспензии с добавлением АЭЭИ							
тип вируса	D, %	25 °C			37 °C		
		24 ч	48 ч	72 ч	24 ч	48 ч	72 ч
RHDV1	0,10	3/3	2/3	1/3	3/3	2/3	1/3
	0,20	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3	1/3
	0,30	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	0,45	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	1,00	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	контроль	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
RHDV2	0,10	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
	0,20	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
	0,30	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	1/3
	0,45	3/3	3/3	2/3	3/3	2/3	1/3
	1,00	1/3	1/3	0/3	0/3	0/3	0/3
	контроль	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3

* Отношение погибших животных к общему количеству в группе;

** суспензия без добавления инактиванта; D – концентрация инактиванта (%).

Цветом выделены условия, при которых летальный эффект отсутствовал.

* Ratio of dead animals to the total number of animals in the group;

**suspension without inactivant; D – inactivant concentration (%).

Conditions under which no lethal effect were observed are highlighted in color.

так и в структурных белок-кодирующих областях генома. Однако у RHDV2 изменения области, кодирующей VP60 (внешний антиген вируса), наблюдались с непропорционально высокой частотой. Было сделано предположение, что такого рода эволюционный процесс продолжается [12].

Считается, что в настоящее время, в связи с иммунологическими особенностями, RHDV2 имеет большой эпизоотический потенциал, что подтверждается данными о вытеснении штаммов RHDV1, которые ранее циркулировали в полевых условиях во Франции, Испании и Португалии [13].

Следует отметить, что RHDV2 не демонстрирует явных преимуществ по активности воспроизводства

в макроорганизме. Накопление геномных копий этого типа возбудителя на 1 мг ткани печени кролика составляло 3×10^8 , при этом RHDV1 репродуцировался до концентрации 2×10^8 геномных копий на миллиграмм ткани [12]. Данное обстоятельство ставит под сомнение утверждение, что показатель интенсивности репродукции вируса RHD типа 2 является признаком его вирулентности.

В рамках поставленной цели исследований определили условия, при которых β-пропиолактон и АЭЭИ полностью инактивируют вирус геморрагической болезни кроликов типов 1 и 2, что позволит получить антигены, которые могут быть использованы для изготовления инактивированной вакцины.

Выбор метода инактивации вируса, т. е. способа устранения его инфекционной способности, может в полной мере определить иммунологические свойства вакцины. Главными критериями эффективности избранного метода являются полнота и необратимость инактивации вируса, а также сохранение его первоначальных антигенных свойств.

Из химических соединений наиболее часто используют два типа инактиваторов: ретикулирующие (разрыхляющие) и алкилирующие. К агентам, ретикулирующим белки, относятся альдегиды (формальдегид, глутаральдегид и глицидальдегид). К алкилирующим агентам, которые воздействуют на структуру нуклеиновых кислот, относятся β -пропиолактон, этиленмин и др. [14].

При оптимальных условиях β -пропиолактон инактивирует, например, вирус ньюкаслской болезни без существенного изменения гемагглютинирующей, нейраминидазной и гемолизирующей активности. Это также относится и к вирусу инфекционного бронхита кур, который после воздействия указанного соединения удовлетворительно сохраняет антигенные свойства. Однако повышение концентрации β -пропиолактона может привести к нежелательной реакции с вирусными белками и, как следствие, – к снижению антигенной активности [14].

Соединения, взаимодействующие с вирусным геномом, называются генотоксическими. В водных растворах такие инактиваторы распадаются с образованием высокоактивных производных, содержащих избыточный положительный заряд – так называемую электрофильную группу (например, хлорэтиламин). Электрофильная группа взаимодействует с отрицательно заряженными (нуклеофильными) группами молекул ДНК или РНК, образуя стабильную ковалентную связь. При репликации такой нуклеотид, связанный с молекулами инактиватора, может быть не считан или неправильно считан полимеразой, что исключает его репликацию или приводит к летальным мутациям [15]. Важным обстоятельством является то, что азотсодержащие гетероциклические соединения инактивируют вирусы в реакции первого порядка, при этом скорость инактивации и конечная точка с достаточной точностью могут быть определены. Это позволяет объективно оценить безопасность конечного продукта [16].

Этиленмин и его N-ацетильное производное инактивируют широкий спектр вирусов, принадлежащих к нескольким различным семействам, в условиях, которые не нарушают ферментативные или серологические свойства ряда белков [17]. Результаты специальных исследований свойств вируса ящура различных типов, инактивированного производными этилена, свидетельствовали, что препараты азиридинового ряда минимально изменяли ответственные за антигенность белковые структуры вириона [18]. Изучение структуры антигена вируса ящура после инактивации этиленмином показало высокий процент 140S-компонента, соответствующего вирионам с сохраненной архитектурой капсида [19]. При инактивации вируса инфекционного ларинготрахеита птиц формалином, β -пропиолактоном, метиленимином и этиленмином установлено, что антиген, полученный после воздействия этиленимина, оказался наиболее иммуногенным [20].

Эффективность воздействия инактиватора зависит по крайней мере от трех факторов: заданной концен-

трации, температуры и времени экспозиции. По результатам ПЦР было установлено, что концентрация бинарного этиленмина 0,001 М не влияла на генгликопротеида вируса гриппа птиц в течение 8 ч экспозиции, тогда как концентрация 0,01 М уже через 4 ч изменяла структуру данного гена [21]. На примере вируса ящура показано, что при повышении температуры от 25 до 37 °С ацетилэтиленмин в концентрации 0,01% ускорял процесс инактивации более чем на порядок [22]. Если при обработке суспензии вируса ящура 0,05%-м ацетилэтиленмином при 37 °С в течение 8 ч инфекционность возбудителя еще сохранялась, то при увеличении времени экспозиции до 12 ч вирус был инактивирован полностью [23].

Одним из важных преимуществ таких инактиваторов, как β -пропиолактон и этиленмин, является то, что они полностью гидролизуются в течение нескольких часов с образованием нетоксичных продуктов, в связи с чем отпадает необходимость их нейтрализации [14].

Известно, что для инактивации вируса геморрагической болезни кроликов могут быть использованы формальдегид, теотропин (А-24) [24, 25]. В некоторых инструкциях по применению инактивированных вакцин против данного заболевания в качестве инактиватора указан формалин [26, 27].

В Российской Федерации на рынке ветеринарных препаратов для специфической профилактики геморрагической болезни кроликов представлено несколько инактивированных вакцин: «Вакцина против вирусной геморрагической болезни кроликов тканевая инактивированная гидроокисью алюминия» (ФГБНУ ФИЦВиМ, Россия) [26]; «Лепимун Гем-2» (BioTestLab, Украина) [27]; Pestorin (Bioveta, Чешская Республика) [28]; «Раббивак-V» (ООО «ТД «Биагро», Россия) [29]. Кроме этого, в 2018 г. была зарегистрирована векторная вакцина «Нобивак Мухо-RHD» (Intervet International B.V., Нидерланды), содержащая рекомбинантный вирус миксоматоза, в ДНК которого встроены гены, кодирующие капсидные протеины вируса геморрагической болезни [30].

Однако только в составе препарата «Лепимун Гем-2» официально указано присутствие антигенов RHDV1 и RHDV2.

Поскольку уровень перекрестной защиты при иммунизации моновакцинами на основе RHDV1 и RHDV2 является недостаточным, и правильным решением данной проблемы может быть только комбинированная вакцинация с использованием обоих антигенных типов [1], считали целесообразным провести разработку способов получения данных антигенов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные при оценке инактивирующего эффекта используемых в исследовании соединений результаты показали, что АЭЭИ и β -пропиолактон не одинаково воздействовали на вирус геморрагической болезни кроликов 1-го и 2-го типов. RHDV1 обладал значительно большей чувствительностью к воздействию использованных инактиваторов. В целях максимального сохранения антигенных структур вируса считали, что оптимальными условиями его инактивации будут следующие:

– для RHDV1 – АЭЭИ в концентрации 0,3% при 37 °С и экспозиции 72 ч или β -пропиолактон в концентрации 0,1–0,3% при 25–37 °С и экспозиции 24–48 ч;

– для RHDV2 – АЭЭИ в концентрации 1% при 37 °С и экспозиции 72 ч или β-пропиолактон в концентрации 0,3% при 25 °С и экспозиции 24 ч.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

(п. п. 1, 2, 6, 8, 12, 13, 16–23 см. REFERENCES)

- Макаров В. В., Вишняков И. Ф., Власов Н. А., Малахова М. С. Вирус геморрагической болезни кроликов: физические и структурные характеристики. *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*. 1992; 4: 49–52. eLIBRARY ID: 21484449.
- Власов Н. А. Физико-химические свойства и антигенная структура вируса геморрагической болезни кроликов: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Псков; 1998. 46 с. Режим доступа: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01000254860#?page=1>.
- Шевченко А. А., Шевченко Л. В., Зеркалев Д. Ю., Шевкопляс В. Н., Черных О. Ю. Вирусная геморрагическая болезнь кроликов. *Ветеринария Кубани*. 2011; 2: 3–6. Режим доступа: http://vetkuban.com/num2_20111.html.
- Третий случай обнаружения вируса геморрагической болезни кроликов нового типа – ВГБК-2 в Российской Федерации. *Новости ФГБНУ ФИЦВиМ*. Режим доступа: <https://ficvim.ru/2019/02/tretij-sluchaj-obnaruzheniya-virusa-gemorragicheskoy-bolezni-krolikov-novogo-tipa-vgbk-2-v-rossijskoj-federacii/> (дата обращения: 09.10.2020).
- Государственный реестр лекарственных средств для ветеринарного применения. *Россельхознадзор. Компонент «Ирена»*. Режим доступа: <https://galen.vetr.ru/#/registry/pharm/registry?page=1> (дата обращения: 09.10.2020).
- Ingezim RHDV DAS. Иммуноферментный анализ для выявления вируса геморрагической болезни кроликов в биологических образцах (Ingenasa, Испания). Режим доступа: http://vetprofilab.ru/f/rus_17rhd2k.pdf.
- Музалевская А. В. Патоморфология вирусной геморрагической болезни кроликов: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Саратов; 2008. 21 с. Режим доступа: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01003457192#?page=1>.
- Сергеев В. А., Непоклонов Е. А., Алипер Т. И. Вирусы и вирусные вакцины. М.: Библионика; 2007. 524 с.
- Фармакологическая группа – алкилирующие средства. Регистр лекарственных средств России (РЛС). Режим доступа: https://www.rlsnet.ru/fg_index_id_268.htm (дата обращения: 09.10.2020).
- Шевченко А. А., Вишняков И. Ф., Дымин М. А., Зубаиров М. М., Карпов Г. М., Неверовский А. И. и др. Способ изготовления инактивированной вакцины против вирусной геморрагической болезни кроликов. Патент № 2039570 Российская Федерация, МПК А61К39/125 (05.1992). ВНИИВиМ. № 5043431/13. Заявл. 26.05.1992. Оpubл. 20.07.1995.
- Шевченко А. А., Шевченко Л. В., Гнездилов И. Д., Голенский А. Г., Кружков Н. Н., Зеркалев Д. Ю. Вакцина против вирусной геморрагической болезни кроликов. Патент № 2229895 Российская Федерация, МПК А61К39/125 (11.2002). Кубанский государственный аграрный университет. № 2002130881/13. Заявл. 18.11.2002. Оpubл. 10.06.2004.
- Инструкция по ветеринарному применению вакцины против вирусной геморрагической болезни кроликов тканевой инактивированной гидроокисью алюминия. ФГБНУ ФИЦВиМ; 2019. Режим доступа: <https://ficvim.ru/wp-content/uploads/2019/03/%D0%98%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80-%D0%92%D0%B0%D0%BA%D1%86%D0%B8%D0%BD%D0%B0-%D0%92%D0%93%D0%91%D0%9A-%D0%B6%D0%B8%D0%B4%D0%BA%D0%B0%D1%8F-17.01.19.pdf> (дата обращения: 09.10.2020).
- Вакцина против геморрагической болезни кроликов, инактивированная («Липимун Гем-2», BioTestLab). Режим доступа: <https://www.biotestlab.ua/products/lapimun-gem-2/> (дата обращения: 09.10.2020).
- Вакцина против геморрагической болезни кроликов (Pestorin, Bioveta). Режим доступа: <https://www.bioveta.cz/ru/preparaty/zdorove-zhivotnyh/pestorin.html> (дата обращения: 09.10.2020).
- Вакцина против вирусной геморрагической болезни кроликов («Раббивак-В») (ООО «ТД «Биагро»). *VetLek. Ветеринарная интернет-аптека*. Режим доступа: <https://www.vetlek.ru/directions/?id=787> (дата обращения: 09.10.2020).
- Вакцина против миксоматоза и вирусной геморрагической болезни кроликов, живая сухая с растворителем («Нобивак Мухо-RHD», Intervet International B.V.). Режим доступа: <https://www.msd-animal-health.ru/product/nobivacmuho-rhd> (дата обращения: 09.10.2020).

REFERENCES

- Rabbit haemorrhagic disease. In: *OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2018; Chap. 3.6.2: 1389–1406. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.06.02_RHD.pdf (date of access: 09.10.2020).

- Moss S. R., Turner S. L., Trout R. C., White P. J., Hudson P. J., Desai A., et al. Molecular epidemiology of Rabbit haemorrhagic disease virus. *J. Gen. Virol.* 2002; 83 (Pt 10): 2461–2467. DOI: 10.1099/0022-1317-83-10-2461. PMID: 12237428.
- Makarov V. V., Vishnyakov I. F., Vlasov N. A., Malakhova M. S. Rabbit hemorrhagic disease virus: physical and structural characteristics. [Virus gemoragicheskoy bolezni krolikov: fizicheskie i strukturnye harakteristiki]. *Vestnik of the Russian Agricultural Sciences*. 1992; 4: 49–52. eLIBRARY ID: 21484449. (in Russian)
- Vlasov N. A. Physico-chemical properties and antigenic structure of rabbit hemorrhagic disease virus [Fiziko-himicheskie svoystva i antigennaya struktura virusa gemoragicheskoy bolezni krolikov]: Author's abstract of Doctor's thesis (Biological Sciences). Pskov; 1998. 46 p. Available at: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01000254860#?page=1>. (in Russian)
- Shevchenko A. A., Shevchenko L. V., Zerkalev D. Yu., Shevkoplyas V. N., Chernykh O. Yu. Viral hemorrhagic disease of rabbits. *Veterinaria Kubani*. 2011; 2: 3–6. Available at: http://vetkuban.com/num2_20111.html. (in Russian)
- Le Gall-Reculé G., Zwingelstein F., Boucher S., Le Normand B., Plassiat G., Portejoie Y., et al. Detection of a new variant of rabbit hemorrhagic disease virus in France. *Vet Rec.* 2011; 168 (5): 137–138. DOI: 10.1136/vr.d697. PMID: 21493491.
- The third case of a new type of rabbit hemorrhagic disease virus (RHDV-2) detection in the Russian Federation. [Tretij sluchaj obnaruzheniya virusa gemoragicheskoy bolezni krolikov novogo tipa – VGBK-2 v Rossijskoj Federacii]. *News FRCVM*. Available at: <https://ficvim.ru/2019/02/tretij-sluchaj-obnaruzheniya-virusa-gemorragicheskoy-bolezni-krolikov-novogo-tipa-vgbk-2-v-rossijskoj-federacii/> (date of access: 09.10.2020). (in Russian)
- FAQ. Hämmorrhagische Krankheit der Kaninchen (RHDV, RHDV-2). *Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit*. Stand: 02.05.2017. Available at: https://www.openagrar.de/servlets/MCRFileNodeServlet/openagrar_derivate_00002514/FLI-Information-FAQ-RHDV-2017-05-02.pdf (date of access: 07.10.2020). (in German)
- State Register of medicines for veterinary use. [Gosudarstvennyj reestr lekarstvennyh sredstv dlya veterinarnogo primeneniya]. *Rosssel'khoz nadzor. Component "Irena"*. Available at: <https://galen.vetr.ru/#/registry/pharm/registry?page=1> (date of access: 09.10.2020). (in Russian)
- Ingezim RHDV DAS. ELISA for the detection of RHDV in biological samples [Immuofermentnyj analiz dlya vyyavleniya virusa gemoragicheskoy bolezni krolikov v biologicheskix obrazcah] (Ingenasa, Spain). Available at: http://vetprofilab.ru/f/rus_17rhd2k.pdf. (in Russian)
- Muzalevskaya A. V. Pathomorphology of viral hemorrhagic rabbit disease [Patomorfologiya virusnoj gemoragicheskoy bolezni krolikov]: Author's abstract of Candidate's thesis (Veterinary Sciences). Saratov; 2008. 21 p. Available at: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01003457192#?page=1>. (in Russian)
- Mahar J. E., Hall R. N., Peacock D., Kovaliski J., Piper M., Mourant R., et al. Rabbit hemorrhagic disease virus 2 (RHDV2; Gl.2) is replacing endemic strains of RHDV in the Australian landscape within 18 months of its arrival. *J. Virol.* 2018; 92 (2):e01374-17. DOI: 10.1128/JVI.01374-17.
- Peacock D., Kovaliski J., Sinclair R., Mutze G., Iannella A., Capucci L. RHDV2 overcoming RHDV immunity in wild rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) in Australia. *Vet. Rec.* 2017; 180 (11): 280. DOI: 10.1136/vr.104135.
- Sergeev V. A., Nepoklonov E. A., Aliper T. I. Viruses and virus vaccines. [Virusy i virusnye vakciny]. Moscow: Biblionika; 2007. 524 p. (in Russian)
- Pharmacological group - alkylating agents. Russian Register of Medicinal Products (RLS) [Farmakologicheskaya grupa – alkiliruyushchie sredstva. Registr lekarstvennyh sredstv Rossii (RLS)]. Available at: https://www.rlsnet.ru/fg_index_id_268.htm (date of access: 09.10.2020). (in Russian)
- Bahnemann H. G. Inactivation of viral antigens for vaccine preparation with particular reference to the application of binary ethylenimine. *Vaccine*. 1990; 8 (4): 299–303. DOI: 10.1016/0264-410x(90)90083-x.
- Brown F. Inactivation of viruses by aziridines. *Vaccine*. 2001; 20 (3–4): 322–327. DOI: 10.1016/s0264-410x(01)00342-5.
- Bahnemann H. G. The inactivation of foot-and-mouth disease virus by ethylenimine and propylenimine. *Zentralbl. Veterinärmed. B*. 1973; 20 (5): 356–360. DOI: 10.1111/j.1439-0450.1973.tb01136.x.
- Rweyemamu M. M., Unehara O., Giorgi W., Medeiros R., Lucca D., Baltazar M. Effect of formaldehyde and binary ethyleneimine (BEI) on the integrity of foot and mouth disease virus capsid. *Rev. Sci. Tech.* 1989; 8 (3): 747–764. DOI: 10.20506/rst.8.3.425. PMID: 32344961.
- Barhoom S., Forgacs A., Solyom F. Development of an inactivated vaccine against infectious laryngotracheitis (ILT) – serological and protection studies. *Avian Pathol.* 1986; 15 (2): 213–221. DOI: 10.1080/03079458.608436282.
- Sarachai C., Sasipreeyajan J., Chansiripornchai N. Avian influenza virus (H5N1) inactivation by binary ethylenimine. *Thai J. Vet. Med.*

2010; 40 (1): 41–46. Available at: https://www.researchgate.net/publication/233231064_Avian_Influenza_Virus_H5N1_Inactivation_by_Binary_Ethylenimine.

22. Cunliffe H. R. Inactivation of foot-and-mouth disease virus with ethylenimine. *Appl. Microbiol.* 1973; 26 (5): 747–750. PMID: 4357652; PMCID: PMC379895.

23. Graves J. H., Arlinghaus R. B. Acetyleneimine in the preparation of inactivated foot-and-mouth disease vaccines. In: *Proceedings, Annual Meeting of the United States Animal Health Association*. 1967; 71: 396–403. PMID: 5257323.

24. Shevchenko A. A., Vishnjakov I. F., Dymin M. A., Zubairov M. M., Karpov G. M., Neverovskij A. I., et al. Process for manufacturing inactivated vaccine used against viral hemorrhagic diseases of rabbits. Patent No. 2039570 Russian Federation, Int. Cl. A61K39/125 (05.1992). Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institut veterinarnoj virusologii i mikrobiologii. No. 5043431/13. Application: 26.05.1992. Date of publication: 20.07.1995. (in Russian)

25. Shevchenko A. A., Shevchenko L. V., Gnezdilov I. D., Golenskij A. G., Kruzhnov N. N., Zerkalev D. Ju. Vaccine against viral hemorrhagic disease in rabbits. Patent No. 2229895 Russian Federation, Int. Cl. A61K39/125 (11.2002). Kubanskij gosudarstvennyj agrarnyj universitet. No. 2002130881/13. Application: 18.11.2002. Date of publication: 10.06.2004. (in Russian)

26. Instructions for veterinary use of tissue inactivated hydroxyaluminium vaccine against viral haemorrhagic rabbit disease. [Instrukcija po veterinarnomu primeneniyu vakciny protiv virusnoj gemorragicheskoy

boleznj krolikov tkanevoj inaktivirovannoj gidrookis'alyuminievoj]. FRCVM; 2019. Available at: <https://ficvim.ru/wp-content/uploads/2019/03/%D0%98%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80-%D0%92%D0%B0%D0%BA%D1%86%D0%B8%D0%BD%D0%B0-%D0%92%D0%93%D0%91%D0%9A-%D0%B6%D0%B8%D0%B4%D0%BA%D0%B0-%D1%8F-17.01.19.pdf> (date of access: 09.10.2020). (in Russian)

27. Inactivated vaccine against rabbit hemorrhagic disease ("Lapimun Gem-2", BioTestLab). Available at: <https://www.biotestlab.ua/products/lapimun-gem-2/> (date of access: 09.10.2020). (in Russian)

28. Vaccine against rabbit haemorrhagic disease ("Pestorin", Bioveta). Available at: <https://www.bioveta.cz/ru/preparaty/zdorove-zhivotny-heu/en/products/veterinary-products/pestorin-suspension-for-injection-for-rabbit.html> (date of access: 09.10.2020). (in Russian)

29. Vaccine against viral hemorrhagic rabbit disease ("Rabbivak-V" (LLC "TD "Biagro"). *VetLek. Online veterinary pharmacy*. Available at: <https://www.vetlek.ru/directions/?id=787> (date of access: 09.10.2020). (in Russian)

30. Live dry vaccine against myxomatosis and viral hemorrhagic rabbit disease with solvent ("Nobivac® Myxo-RHD", Intervet International B.V.). Available at: <https://www.msd-animal-health.ru/product/nobivacmuho-rhd/> (date of access: 09.10.2020). (in Russian)

Поступила 02.11.2020

Принята в печать 30.11.2020

Received on 02.11.2020

Approved for publication on 30.11.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Куникова Екатерина Дмитриевна, аспирант, технолог лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Мороз Наталья Владимировна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Долгова Мария Алексеевна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Малахова Людмила Васильевна, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры эпизоотологии, паразитологии и микробиологии ФГБОУ ВО Костромская ГСХА, пос. Караваево, Костромская обл., Россия.

Комаров Илья Александрович, младший научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Ekaterina D. Kunikova, Post-Graduate Student, Technologist, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Natalia V. Moroz, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Maria A. Dolgova, Candidate of Science (Biology), Junior Researcher, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Lyudmila V. Malakhova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Department of Epizootology, Parasitology and Microbiology, FSBEI HE Kostroma SAA, Karavaevo, Kostroma Oblast, Russia.

Ilya A. Komarov, Junior Researcher, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Колостральный иммунитет как аналитический фактор прогнозирования развития острых респираторных вирусных инфекций у телят

Е. Н. Шилова¹, А. П. Порываева², Е. В. Печура³, Л. В. Халтурина⁴

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН), г. Екатеринбург, Россия

¹ ORCID 0000-0002-9506-6883, e-mail: adelaida.gurgenovna@mail.ru

² ORCID 0000-0003-3224-1717, e-mail: app1709@inbox.ru

³ ORCID 0000-0003-1344-4834, e-mail: ev-pechura@bk.ru

⁴ ORCID 0000-0002-7820-2863, e-mail: lutoslavskaya@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Для снижения заболеваемости крупного рогатого скота острыми респираторными вирусными инфекциями проводится плановая вакцинация коров-матерей. Существует прямая зависимость уровня пассивного иммунитета у телят от эффективности вакцинопрофилактики коров. В работе представлены результаты исследования напряженности колострального иммунитета у телят и поствакцинального иммунитета у коров против возбудителей острых респираторных вирусных инфекций в сельскохозяйственных организациях, находящихся на территории Уральского и Приволжского федеральных округов. В обследованных хозяйствах ($n = 10$) крупный рогатый скот прививают инактивированными вакцинами: «КОМБОВАК» и «КОМБОВАК-Р» (ООО «Ветбиохим», Россия), «HIPRAVIS» 4» (Laboratorios Hipra, S. A., Испания). Исследование напряженности поствакцинального иммунитета у коров показало, что уровень антител к возбудителям инфекционного ринотрахеита ($5,3-8,0 \log_2$), вирусной диареи ($3,5-4,8 \log_2$), парагриппа-3 ($6,8-8,5 \log_2$), респираторно-синцитиальной инфекции ($4,2-4,5 \log_2$) крупного рогатого скота соответствует протективному. При оценке результатов серодиагностики пассивного иммунитета у телят к острым респираторным вирусным инфекциям установлено, что уровень колостральных антител у них ниже, чем уровень поствакцинальных антител у коров: к вирусу инфекционного ринотрахеита на 34,2–58,8%; к вирусу диареи на 37,5–45,0%; к вирусу парагриппа-3 на 14,7–35,4%; к респираторно-синцитиальному вирусу на 23,5–42,2%. Для обеспечения эпизоотического благополучия предложено провести коррекцию программ специфической профилактики заболеваний крупного рогатого скота в неблагополучных по острым респираторным вирусным инфекциям стадах для подвергнутых обследованию молочно-товарных ферм.

Ключевые слова: Крупный рогатый скот, острые респираторные вирусные инфекции, вакцинация, колостральный иммунитет, поствакцинальный иммунитет.

Благодарность: Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг. по направлению «Молекулярно-биологические и нанобиотехнологические методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных».

Для цитирования: Шилова Е. Н., Порываева А. П., Печура Е. В., Халтурина Л. В. Колостральный иммунитет как аналитический фактор прогнозирования развития острых респираторных вирусных инфекций у телят. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 29–32. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-29-32.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Шилова Евгения Николаевна, доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных болезней, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, 620142, Россия, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112 а, e-mail: info@urnivi.ru.

UDC 619:616.98:578.831.31:616.017.11/.12:636.22/.28.053.2

Colostrum immunity as an analytical factor in predicting the development of acute respiratory viral infections in calves

E. N. Shilova¹, A. P. Poryvaeva², E. V. Pechura³, L. V. Khalturina⁴

Federal State Budgetary Scientific Institution "Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences" (FSBSI UrFASRC UrB of RAS), Ekaterinburg, Russia

¹ ORCID 0000-0002-9506-6883, e-mail: adelaida.gurgenovna@mail.ru

² ORCID 0000-0003-3224-1717, e-mail: app1709@inbox.ru

³ ORCID 0000-0003-1344-4834, e-mail: ev-pechura@bk.ru

⁴ ORCID 0000-0002-7820-2863, e-mail: lutoslavskaya@mail.ru

SUMMARY

To reduce the incidence of acute respiratory viral infections in cattle, routine vaccination of mother cows is carried out. There is a direct dependence of the passive immunity level in calves on the vaccination efficacy in cows. The paper presents the results of a study of colostral immunity in calves and post-vaccination immunity in cows against the agents of acute respiratory viral infections in agricultural facilities located on the territory of the Ural and Volga Federal Districts. In the farms under study ($n = 10$), cattle are vaccinated with inactivated vaccines: "COMBOVAC" and "COMBOVAC-R" (OOO Vetbiokhim, Russia), "HIPRABOVIS® 4" (Laboratorios Hipra, S. A., Spain). The study of postvaccinal immunity level in cows showed that the levels of antibodies to infectious bovine rhinotracheitis virus ($5.3-8.0 \log_2$), bovine viral diarrhea virus ($3.5-4.8 \log_2$), bovine parainfluenza-3 virus ($6.8-8.5 \log_2$) and bovine respiratory syncytial virus ($4.2-4.5 \log_2$) in cattle confer protection. When evaluating the results of serological diagnostics of passive immunity in calves to acute respiratory viral infections, it was found that the level of colostral antibodies in them is lower than the level of post-vaccination antibodies in cows: to infectious bovine rhinotracheitis virus by 34.2–58.8%; to bovine diarrhea virus by 37.5–45.0%; to bovine parainfluenza-3 virus by 14.7–35.4 and to bovine respiratory syncytial virus by 23.5–42.2%. To ensure epizootic favourable situation, it is proposed to adjust the schedules of vaccination against bovine diseases in herds, infected by acute respiratory viral infections for dairy farms under study.

Keywords: Cattle, respiratory viral infections, vaccination, colostral immunity, post-vaccination immunity.

Acknowledgements: The studies were performed with the financial support of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the framework of the Program of Fundamental Research at the State Scientific Academies for 2013–2020 using "Molecular, Biological and Nanobiotechnological Techniques for the Development of Next Generation Biologicals, Technologies and Methods of Their Use to Control Highly Dangerous Infectious, Parasitic and Non-Contagious Animal Diseases".

For citation: Shilova E. N., Poryvaeva A. P., Pechura E. V., Khalturina L. V. Colostral immunity as an analytical factor in predicting the development of acute respiratory viral infections in calves. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 29–32. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-29-32.

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

For correspondence: Evgenia N. Shilova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Viral Diseases, FSBSI UrFASRC UrB of RAS, 620142, Russia, Ekaterinburg, Belinsky str., 112 a, e-mail: info@urnivi.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Ключевая роль при защите и оздоровлении крупного рогатого скота (КРС) от острых респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) отводится вакцинации [1]. Основным результатом планомерной и активной вакцинации является формирование популяционного специфического иммунитета, при котором происходит снижение заболеваемости и, как правило, сокращается циркуляция возбудителей ОРВИ в стаде [2, 3].

Основу популяционного специфического иммунитета составляет иммунная прослойка – количественный показатель доли особей (в %), обладающих иммунитетом к определенной инфекции [4]. При этом учитываются особи как с активным иммунитетом, достигнутым с помощью вакцинации, так и с пассивным, который формируется в результате введения специфических антител и/или переноса иммунокомпетентных клеток. От иммунной прослойки в популяции зависит непосредственность специфического иммунитета и длительность его сохранения на защитном уровне (феномен иммунологической памяти) [4, 5]. Структура иммунной прослойки в различных возрастных группах КРС существенно отличается. Так, у телят первого месяца жизни преобладает пассивный иммунитет, а у коров дойного стада – активный. В многочисленных исследованиях доказана прямая зависимость уровня пассивного иммунитета у телят от эффективности вакцинопрофилактики ОРВИ у коров-матерей [6–9].

Колостральный иммунитет у телят – основной фактор, сдерживающий проникновение в клетки и репликацию вирусов группы ОРВИ до начала проведения программ активной вакцинации. Как правило, при низком уровне антител либо при их снижении начинается рост заболеваемости молодняка респираторными вирусными инфекциями. Важно выбрать такое время при-

менения средств специфической профилактики, чтобы, с одной стороны, у телят не произошла нейтрализация вакцинных антигенов колостральными иммуноглобулинами, а с другой – чтобы своевременно сформировать долгосрочный полноценный активный иммунитет. В каждом стаде этот период будет зависеть от многих факторов, в числе которых уровень колостральных антител у телят (который связан с поствакцинальным иммунитетом коров-матерей, а также технологией выйки молозива) и период их полувыведения.

Цель исследования – анализ наличия пассивных антител у молодняка крупного рогатого скота по сравнению с поствакцинальным иммунитетом коров-матерей для прогноза начала проявления ОРВИ и планирования сроков проведения иммунизации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены в отделе мониторинга и прогнозирования инфекционных болезней ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН (г. Екатеринбург) в рамках направления 160 Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук «Молекулярно-биологические и нанобиотехнологические методы создания биопрепаратов нового поколения, технологии и способы их применения с целью борьбы с особо опасными инфекционными, паразитарными и незаразными болезнями животных (2013–2020 гг.)».

Объектом исследования служил крупный рогатый скот, содержащийся в условиях промышленных технологий, биологический материал – сыворотка крови коров и телят в возрасте 3–7 суток ($n = 327$). Клинические образцы сывороток крови были получены из 10 сельскохозяйственных организаций, находящихся на территории Уральского и Приволжского федеральных округов. В обследованных хозяйствах крупный рогатый

скот прививают инактивированными вакцинами: «КОМБОВАК» и «КОМБОВАК-Р» (ООО «Ветбиохим», Россия), «HIPRABOVIS® 4» (Laboratorios Hipra, S.A., Испания).

Серологические исследования сывороток крови с целью выявления антител к возбудителям инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота (ИРТ КРС), вирусной диареи крупного рогатого скота (ВД КРС), парагриппа-3 (ПГ-3 КРС), респираторно-синциальной инфекции крупного рогатого скота (РСИ КРС) проводили в реакциях непрямой гемагглютинации (РНГА) и торможения гемагглютинации (РТГА) с использованием коммерческих наборов эритроцитарных диагностикумов российского производства. Титр выявленных антител выражали в обратных значениях логарифма по основанию 2 ($\log_2$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты серологических исследований сывороток крови, отобранной от телят первого месяца жизни и коров, представлены на рисунках 1–4.

Анализ полученных данных по исследованию напряженности поствакцинального иммунитета у коров показал, что уровень антител к вирусам ИРТ КРС, ВД КРС, ПГ-3 КРС, РСИ КРС соответствует протективному. Максимальный титр поствакцинальных антител

к вирусу ИРТ КРС ($8,0 \log_2$) диагностировали у животных молочно-товарных ферм Челябинской области, минимальный ($5,3 \log_2$) – у коров молочно-товарных ферм Пермского края. Уровень поствакцинальных антител к вирусу ВД КРС у обследованных коров составлял от $3,5 \log_2$ (Курганская область) до $4,8 \log_2$ (Удмуртская Республика); к вирусу РСИ КРС – от $4,2 \log_2$ (Челябинская область) до $4,5 \log_2$ (Пермский край); к вирусу ПГ-3 КРС – от $6,8 \log_2$ (Удмуртская Республика) до $8,5 \log_2$ (Курганская область).

При анализе результатов серодиагностики пассивного иммунитета к ОРВИ у телят установлено, что в ряде случаев уровень колостральных антител был ниже, чем уровень поствакцинальных антител у коров.

Так, у телят молочно-товарных ферм Курганской области уровень колостральных антител к вирусу ВД КРС был ниже на 7,14%, к вирусу ПГ-3 КРС – на 14,70%, к вирусу РСИ КРС – на 23,52%. У телят молочно-товарных ферм Челябинской области зарегистрировано снижение колостральных антител к вирусу ИРТ КРС на 58,75%, к вирусу ВД КРС – на 42,50%, к вирусу ПГ-3 КРС – на 35,36%, к вирусу РСИ КРС – на 38,09%. Аналогичная картина дефицита колостральных антител наблюдалась у телят молочно-товарных ферм Пермского

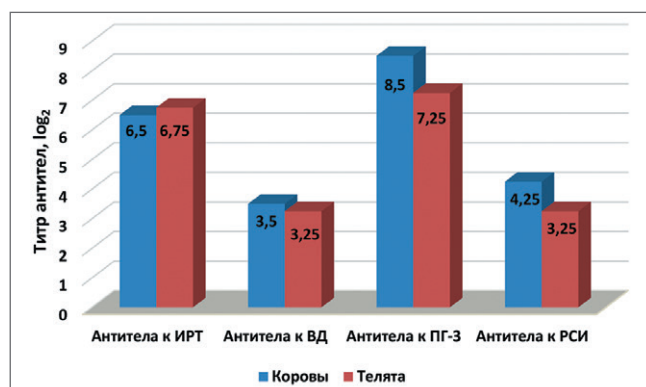


Рис. 1. Уровень поствакцинальных и колостральных антител к возбудителям ОРВИ у животных молочно-товарных ферм Курганской области

Fig. 1. The level of postvaccinal and colostral antibodies to ARVI agents in animals of dairy farms in the Kurgan Oblast

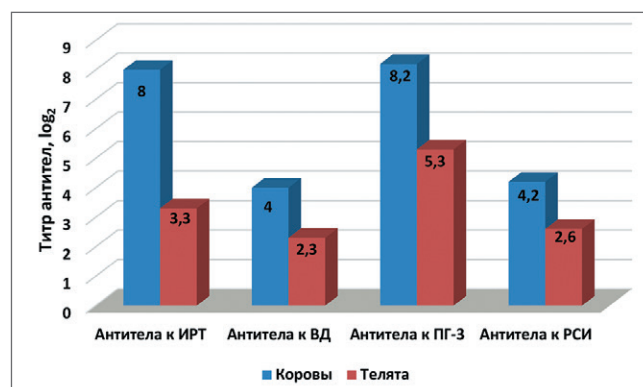


Рис. 2. Уровень поствакцинальных и колостральных антител к возбудителям ОРВИ у животных молочно-товарных ферм Челябинской области

Fig. 2. The level of postvaccinal and colostral antibodies to ARVI agents in animals of dairy farms in the Chelyabinsk Oblast

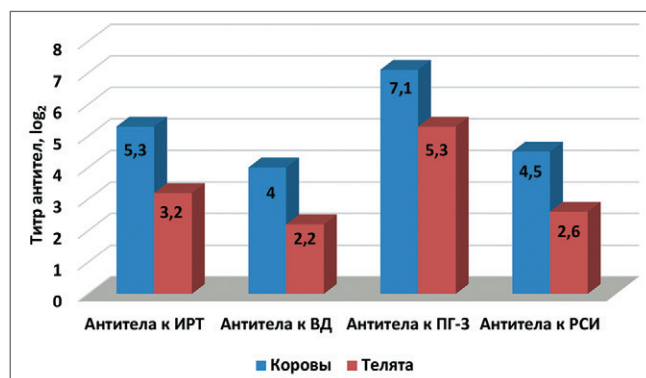


Рис. 3. Уровень поствакцинальных и колостральных антител к возбудителям ОРВИ у животных молочно-товарных ферм Пермского края

Fig. 3. The level of postvaccinal and colostral antibodies to ARVI agents in animals of dairy farms in the Perm Krai

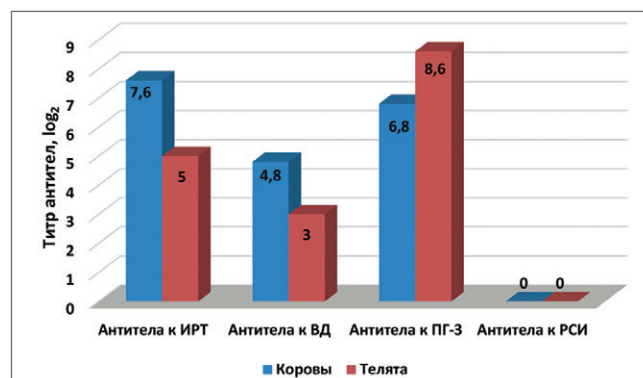


Рис. 4. Уровень поствакцинальных и колостральных антител к возбудителям ОРВИ у животных молочно-товарных ферм Удмуртской Республики

Fig. 4. The level of postvaccinal and colostral antibodies to ARVI agents in animals of dairy farms in the Udmurt Republic

края: к вирусу ИРТ КРС – на 39,62%, к вирусу ВД КРС – на 45,00%, к вирусу ПГ-3 КРС – на 25,35%, к вирусу РСИ КРС – на 42,22%. У телят молочно-товарных ферм Удмуртской Республики снижение уровня колостральных антител диагностировалось в отношении вируса ИРТ КРС на 34,21% и вируса ВД КРС на 37,50%.

Основными причинами выявленных различий в напряженности колострального иммунитета к возбудителям ОРВИ у телят и поствакцинального иммунитета у коров, на наш взгляд, могут быть нарушения технологии выпаивания молозива и/или программы вакцинопрофилактики у коров-матерей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что у телят на фермах Курганской области и Удмуртии отмечен довольно высокий титр колостральных антител по сравнению с уровнем поствакцинальных антител к возбудителям ОРВИ у коров-матерей. Поэтому сроки первой вакцинации молодняка в этих стадах можно сдвигать (с учетом технологии выращивания) до 30–45-суточного возраста. В стадах Пермского края и Челябинской области наблюдается обратная ситуация – отмечена низкая передача иммуноглобулинов с молозивом новорожденным: к месячному возрасту уровень антител у обследованных телят был на уровне минимального протективного значения или даже ниже. Вакцинацию молодняка в таких стадах нужно начинать на 1–2 недели раньше, т. е. падение уровня колостральных антител может привести к ранней заболеваемости ОРВИ.

Таким образом, определение содержания колостральных антител позволит спрогнозировать возраст начала заболевания молодняка крупного рогатого скота респираторными вирусными инфекциями, наладить технологию выпойки молозива, проводить коррекцию программ специфической профилактики заболеваний крупного рогатого скота в неблагополучных по ОРВИ стадах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 8, 9 см. REFERENCES)

1. Донник И. М., Петрова О. Г., Марковская С. А. Острые респираторные заболевания крупного рогатого скота и проблемы профилактики в современных условиях промышленного производства. *Аграрный вестник Урала*. 2013; 10 (116): 25–27. eLIBRARY ID: 20499271.
2. Шабунин С. В., Шахов А. Г., Черницкий А. Е., Золотарев А. И., Рецкий М. И. Респираторные болезни телят: современный взгляд на проблему. *Ветеринария*. 2015; 5: 3–13. eLIBRARY ID: 23527034.

3. Шаншин Н. В., Евсеева Т. П. Напряженность поствакцинального иммунитета к вирусу ПГ-3, ИРТ, ВД-БС крупного рогатого скота в зависимости от иммуногенных свойств вакцин. *Вестник Алтайского ГАУ*. 2018; 4 (162): 140–145. eLIBRARY ID: 34900721.

4. Медуницын Н. В., Миронов А. Н., Мовсесянц А. А. Теория и практика вакцинологии. М.: Ремедиум; 2015. 496 с.

5. Луницын В. Г., Шаншин Н. В., Евсеева Т. П. Иммунологическая реактивность коров-доноров к парагриппу-3 и инфекционному ринотрахеиту в зависимости от количества и сочетания вакцинных антигенов. *Вестник Алтайского ГАУ*. 2016; 5 (139): 135–138. eLIBRARY ID: 26178006.

6. Счисленко С. А., Щербак О. И., Мороз А. А., Сивков И. О., Сушкова М. А., Щербак Я. И. Напряженность колострального иммунитета у телят к респираторным вирусам. *Вестник КрасГАУ*. 2018; 4 (139): 82–85. eLIBRARY ID: 35423848.

7. Шульга Н. Н., Петрухин М. А., Желябовская Д. А. Некоторые аспекты формирования колострального иммунитета у новорожденных животных. *Вестник КрасГАУ*. 2012; 8 (71): 136–139. eLIBRARY ID: 18201108.

REFERENCES

1. Donnik I. M., Petrova O. G., Markovskaya S. A. Sharp respiratory diseases of cattle and prophylaxis problem in the modern conditions of industrial production. *Agrarnyi vestnik Urala*. 2013; 10 (116): 25–27. eLIBRARY ID: 20499271. (in Russian)
2. Shabunin S. V., Shakhov A. G., Chernitskiy A. E., Zolotarev A. I., Retsky M. I. Respiratory diseases of calves: A modern approach to the problem. *Veterinariya*. 2015; 5: 3–13. eLIBRARY ID: 23527034. (in Russian)
3. Shanshin N. V., Yevseyeva T. P. Postvaccinal immunity stress to the viruses of bovine parainfluenza-3 (PI-3), infectious bovine rhinotracheitis (IBR), and bovine viral diarrhoea – mucosal disease (BVD-MD) depending on the immunogenic properties of vaccines. *Vestnik Altaiskogo SAU*. 2018; 4 (162): 140–145. eLIBRARY ID: 34900721. (in Russian)
4. Medunitsyn N. V., Mironov A. N., Movsesyants A. A. Theory and practice of vaccinology. [Теория и практика вакцинологии]. М.: Remedium; 2015. 496 p. (in Russian)
5. Lunitsyn V. G., Shanshin N. V., Yevseyeva T. P. The immune responsiveness of donor cows to bovine parainfluenza-3 and infectious rhinotracheitis depending on the number and combination of vaccine antigens. *Vestnik Altaiskogo SAU*. 2016; 5 (139): 135–138. eLIBRARY ID: 26178006. (in Russian)
6. Schislenko S. A., Shcherbak O. I., Moroz A. A., Sivkov I. O., Sushkova M. A., Shcherbak Ya. I. The tension of colostral immunity of calves to respiratory virus. *Bulletin of KSAU*. 2018; 4 (139): 82–85. eLIBRARY ID: 35423848. (in Russian)
7. Shulga N. N., Petrukhin M. A., Zhelyabovskaya D. A. Some aspects of colostral immunity formation in the newborn animals. *Bulletin of KSAU*. 2012; 8 (71): 136–139. eLIBRARY ID: 18201108. (in Russian)
8. Hill K. L., Hunsaker B. D., Townsend H. G., van Drunen Littel-van den Hurk S., Griebel P. J. Mucosal immune response in newborn Holstein calves that had maternally derived antibodies and were vaccinated with an intranasal multivalent modified-live virus vaccine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2012; 240 (10): 1231–1240. DOI: 10.2460/javma.240.10.1231.
9. Petrini S., Iscaro C., Righi C. Antibody responses to bovine alphaherpesvirus 1 (BoHV-1) in passively immunized calves. *Viruses*. 2019; 11 (1):23. DOI: 10.3390/v11010023.

Поступила 04.09.2020

Принята в печать 24.12.2020

Received on 04.09.2020

Approved for publication on 24.12.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шилова Евгения Николаевна, доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных болезней, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Порываева Антонина Павловна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник с выполнением обязанностей заведующего лабораторией вирусных болезней, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Печура Елена Владимировна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусных болезней, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Халтурина Лариса Витальевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории патологии органов размножения и болезней молодняка, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Evgenia N. Shilova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Viral Diseases, FSBSI UrFASRC UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia.

Antonina P. Poryvaeva, Doctor of Science (Biology), Leading Researcher performing duties of Head Laboratory of Viral Diseases, FSBSI UrFASRC UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia.

Elena V. Pechura, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Viral Diseases, FSBSI UrFASRC UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia.

Larisa V. Khalturina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Pathology of Reproductive Organs and Diseases of Young Animals, FSBSI UrFASRC UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia.

DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-33-37
 УДК 619:616-078:579.873.21:636.22/.28

Проблемы и перспективы серологической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота

М. О. Баратов

Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» (Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»), Республика Дагестан, г. Махачкала, Россия;
 e-mail: alama500@rambler.ru

РЕЗЮМЕ

При оздоровлении каждого неблагополучного по туберкулезу хозяйствующего субъекта необходимо выявлять анергичных к туберкулину животных, являющихся потенциальным источником инфекции. Целью настоящего исследования было изучение роли комплементсвязывающих и гемагглютинирующих антител при выявлении большого туберкулезом крупного рогатого скота. В двух неблагополучных по туберкулезу хозяйствах исследовано трехкратно в динамике 977 голов скота разных половозрастных групп. Всех реагирующих на туберкулин животных (132 головы; 13,5%) через 35 дней подвергли комплексному исследованию с использованием аллергических и серологических методов. На третьем этапе с интервалом 40 дней исследовали животных с выраженной специфической активностью антител и низким функциональным состоянием клеточного иммунитета. Показана низкая информативность аллергических методов диагностики туберкулеза в неблагополучных по заболеванию хозяйствах. Установлена активность комплементсвязывающих и гемагглютинирующих антител в организме анергичных к туберкулину животных. Более высокая антигенная активность выявлена в реакции связывания комплемента у комплексного туберкулезного антигена Украинского НИИЭВ в сравнении с антигеном Сибирского НИВИ, а также в реакции непрямого гемагглютинации с полисахаридным антигеном ВИЭВ, показатель выявляемости при этом составил 68 (7,0%), 28 (2,9%) и 299 (30,6%) случаев соответственно. Коррелятивной связи между серопозитивностью и иммунореактивностью обнаружить не удалось. Животные с положительными показаниями в реакции связывания комплемента и реакции непрямого гемагглютинации не реагировали на туберкулин. При послеубойном осмотре у 19 из 20 не реагировавших на туберкулин коров патолого-анатомические изменения совпадали с серопозитивностью, причем у животных с положительными показаниями в реакции связывания комплемента с антигеном Сибирского НИВИ – во всех случаях. Полученные результаты свидетельствуют о высокой результативности комбинации аллергического теста с серологическими методами и перспективности их сочетанного использования для диагностики туберкулеза крупного рогатого скота.

Ключевые слова: Туберкулез, серологические реакции, аллерген, анергия, антитела, крупный рогатый скот, аллергический метод, патолого-анатомические исследования.

Для цитирования: Баратов М. О. Проблемы и перспективы серологической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 33–37. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-33-37.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Баратов Магомед Омарович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, заместитель директора по научной работе, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», 367000, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88, e-mail: alama500@rambler.ru.

UDC 619:616-078:579.873.21:636.22/.28

Problems and prospects of bovine tuberculosis serological diagnosis

M. O. Baratov

Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia;
 e-mail: alama500@rambler.ru

SUMMARY

For the purposes of tuberculosis eradication on any tuberculosis-infected farm, it is necessary to identify tuberculin anergic animals, being a potential source of the infection. The purpose of this study was to analyze the role of complement fixing and haemagglutinating antibodies for the detection cattle infected with bovine tuberculosis (TB). 977 cattle of different sex and age groups on two tuberculosis-infected farms were tested thrice over time. After 35 days all tuberculin reactive cattle (132 animals; 13.5%) were subjected to complex testing using allergy and serology methods. After 40 days, (Stage 3) animals demonstrating apparent specific antibody activity and low cell immunity were tested. Allergy tests were proved to be non-informative to diagnose tuberculosis on infected farms. Complement fixing and haemagglutinating antibodies were found to be active in tuberculin anergic animals. A higher antigenicity of Ukrainian RIEVM TB antigen complex as compared

to Siberian RVI one was revealed by complement fixation test as well as by indirect haemagglutination test using VIEV polysaccharide antigen; the detection rate was 68 (7.0%), 28 (2.9%) and 299 (30.6%) respectively. The correlation between seropositivity and immunoreactivity was not established. Animals, positive in complement fixation and indirect haemagglutination tests, did not react to tuberculin. Nineteen out of twenty tuberculin reactive animals showed post mortem lesions, consistent with their seropositivity during post-mortem inspection; moreover, the postmortem lesions of animals, positive in complement fixation test using Siberian RVI antigen, were consistent in all cases. The results obtained suggest a high performance of allergy test and serological test combination and a promising potential of their complex use for tuberculosis diagnosis in cattle.

Keywords: Tuberculosis, serological tests, allergen, anergy, antibodies, cattle, allergy test, post mortem tests.

For citation: Baratov M. O. Problems and prospects of bovine tuberculosis serological diagnosis. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 33–37. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-33-37.

Conflict of interest: The author declares no conflict of interest.

For correspondence: Magomed O. Baratov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Deputy Director for Research, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 367000, Russia, Republic of Dagestan, Makhachkala, Dakhadaeva str., 88, e-mail: alama500@rambler.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В неблагополучных по туберкулезу хозяйствах у больных животных может развиваться анергия к туберкулину. Такие животные не реагируют на внутрикожное введение туберкулина и являются источником инфекции [1–4].

В литературе имеется достаточно сведений о выявлении анергичных к туберкулину животных с помощью серологических реакций. Так, исследования сывороток крови крупного рогатого скота в реакции связывания комплемента, проведенные И. А. Каркадиновской, показывают наличие в стаде 19,2% таких животных [5]; согласно исследованиям Э. Д. Лакман – от 2 до 3% [6]; В. И. Ротов и соавт. обнаруживали 12% животных [7], Ю. Я. Кассич и соавт. – 1,5–7,8% [8]. Для уточнения результатов аллергического исследования и обнаружения животных в состоянии анергии в основном используются реакция связывания комплемента и реакция непрямой гемагглютинации [9].

А. С. Донченко и соавт. при изучении специфичности различных антигенов в реакции связывания комплемента в благополучных по туберкулезу хозяйствах установили, что в сравнении с фенольным антигеном Сибирского научно-исследовательского ветеринарного института (Сибирский НИВИ) комплексный туберкулезный антиген Украинского научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии (Украинский НИИЭВ) обладал более высокой специфичностью [10].

Реакцию непрямой гемагглютинации для диагностики туберкулеза крупного рогатого скота изучали такие исследователи, как Е. И. Буряк [11], А. И. Кузин и Н. П. Овдиенко [9], В. Л. Солодовников [12] и другие. Н. П. Овдиенко и соавт. установили возможность использования реакции непрямой гемагглютинации с полисахаридным антигеном Всесоюзного института экспериментальной ветеринарии (ВИЭВ) для выявления больных туберкулезом, а также анергичных к туберкулину животных [13].

Исследователи при проведении реакций связывания комплемента и непрямой гемагглютинации применяли множество антигенов для прижизненной диагностики туберкулеза в хозяйствах с различной

эпизоотической ситуацией по этой болезни, но полученные результаты оказались противоречивыми.

Цель работы – оценка эффективности серологических методов исследования для выявления анергичного к туберкулину крупного рогатого скота в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Практическую значимость серологических реакций определяли в двух хозяйствах, где оздоровление проводилось путем систематических диагностических исследований с удалением реагирующих животных. Всего было исследовано 977 голов крупного рогатого скота разных половозрастных групп: в первом хозяйстве – 563 головы, из них 269 коров в возрасте 3–4-х лет и молодняк 1,5–2-летнего возраста (294 головы); во втором хозяйстве – 414 голов (219 и 195 голов соответственно).

Реагирующих на туберкулин животных через 35 дней подвергали комплексному исследованию с применением внутрикожной, пальпебральной, глазной проб и серологических реакций.

Исследования проводили в соответствии с «Наставлением по диагностике туберкулеза животных» (утв. Департаментом ветеринарии МСХ РФ 18.11.2002), туберкулин для млекопитающих вводили в количестве 10 000 международных единиц.

Реакцию связывания комплемента ставили с комплексным туберкулезным антигеном Украинского НИИЭВ и фенольным антигеном Сибирского НИВИ по утвержденным методикам, а реакцию непрямой гемагглютинации – с полисахаридным антигеном ВИЭВ по методу М. Loid.

Не реагирующих на введение туберкулина животных с положительными показаниями в реакциях связывания комплемента и непрямой гемагглютинации через 40 дней повторно исследовали внутрикожной пробой. Патолого-анатомическому исследованию подвергли 20 не реагирующих на туберкулин коров с положительными результатами, полученными в обеих реакциях. Проводили осмотр внутренних органов и лимфатических узлов и вне зависимости от наличия или отсутствия туберкулезных изменений отбирали материал для лабораторного исследования по общепринятой методике.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате аллергических исследований установили, что на введение туберкулина реагировали 132 (13,5%) из 977 животных.

При проведении через 35 дней вторичного комплексного исследования различными аллергическими и серологическими методами выявили: 27 (2,8%) реагирующих на внутрикожную пробу животных; 24 (2,5%) – на пальпебральную пробу; 4 (0,4%) – на глазную пробу (табл. 1). Все животные с положительной реакцией на офтальмопробу одновременно реагировали на внутрикожную и пальпебральную пробы. Только на пальпебральную реагировало 5 животных, на внутрикожную – 8.

Диагностические титры комплемента связывающих антител в реакции связывания комплемента с комплексным туберкулезным антигеном Украинского НИИЭВ установили в 68 (7,0%) случаях, а с фенольным антигеном Сибирского НИВИ – в 28 (2,9%). При серологическом исследовании сывороток крови в реакции непрямой гемагглютинации с полисахаридным антигеном ВИЭВ гемагглютинирующие антитела были обнаружены в 299 (30,6%) случаях.

Положительные показания в реакции связывания комплемента устанавливали чаще с сыворотками крови коров, чем телок. Так, с комплексным туберкулезным антигеном Украинского НИИЭВ диагностические титры антител установили в среднем у 10,5% коров и 3,5% телок, с антигеном Сибирского НИВИ – у 4,5 и 1,2% соответственно. Из 27 животных с положительными показаниями на внутрикожное введение туберкулина при проведении реакции связывания комплемента с комплексным туберкулезным антигеном Украинского НИИЭВ результаты совпадали в 3 случаях, с антигеном Сибирского НИВИ – в 2 случаях, при постановке реакции непрямой гемагглютинации – в 10 случаях. При серологическом исследовании сывороток крови в реакции связывания комплемента с обоими антигенами положительные показания совпали у 26 животных. Совпадение результатов, полученных в реакции непрямой гемагглютинации и реакции связывания комплемента с антигеном Сибирского НИВИ, произошло

в 22 случаях, а с комплексным туберкулезным антигеном Украинского НИИЭВ – в 41 случае.

Реагирующие на внутрикожную пробу животные были изолированы. Остальные 950 голов с положительными результатами пальпебральной и глазной проб, реакций связывания комплемента и непрямой гемагглютинации были оставлены в стадах. Через 40 дней они были подвергнуты повторному исследованию внутрикожной пробой, в результате чего выявили 18 (1,9%) реагирующих: 9 из 471 (1,9%) коровы и 9 из 479 (1,9%) телок. Из 96 животных с комплемента связывающими антителами в сыворотке крови ни одно не реагировало на внутрикожную пробу, из 299 животных с гемагглютинирующими антителами в крови реагировало 10 голов.

Сопоставительный анализ результатов аллергических и серологических исследований показал отсутствие коррелятивной связи между серопозитивностью и иммунореактивностью. Из числа животных с положительными результатами, полученными в реакции связывания комплемента с комплексным туберкулезным антигеном Украинского НИИЭВ (65 голов), с антигеном Сибирского НИВИ (26 голов) и в реакции непрямой гемагглютинации (299 голов), реагирующих на введение туберкулина выявлено не было.

С целью сравнения положительных показаний реакций связывания комплемента и непрямой гемагглютинации с патолого-анатомическими изменениями в органах произвели убой 20 не реагировавших на туберкулин коров (табл. 2).

У 19 из 20 животных диагностические титры антител были обнаружены в реакции связывания комплемента с антигеном Украинского НИИЭВ, у всех животных – в реакции связывания комплемента с антигеном Сибирского НИВИ и у 16 – в реакции непрямой гемагглютинации с полисахаридным антигеном ВИЭВ. При послеубойном осмотре у 19 из 20 животных наблюдали патолого-анатомические изменения, характерные для туберкулеза, причем в 3 случаях установили «жемчужницу», в 4 случаях – генерализованную форму, у остальных 12 животных обнаружили локальные изменения в органах и лимфатических узлах.

Таблица 1
Результаты комплексного исследования животных на туберкулез

Table 1
Results of animal complex testing for tuberculosis

Номер хозяйства	Половозрастная группа животных	Количество животных	Количество реагирующих на введение туберкулина животных			Диагностические титры антител		
			внутрикожная проба	пальпебральная проба	глазная проба	РСК (антиген Украинского НИИЭВ)	РСК (антиген Сибирского НИВИ)	РНГА (антиген ВИЭВ)
1	Коровы	269	9 (3,3)*	6 (2,2)	2 (0,7)	46 (17,1)	21 (7,8)	96 (35,7)
	Телки	294	3 (1,0)	4 (1,4)	–	9 (3,0)	1 (0,3)	57 (19,4)
2	Коровы	219	6 (2,7)	6 (2,7)	–	5 (2,3)	1 (0,5)	48 (21,9)
	Телки	195	9 (4,6)	8 (4,1)	2 (1,0)	8 (4,1)	5 (2,6)	98 (50,3)
Всего		977	27 (2,8)	24 (2,5)	4 (0,4)	68 (7,0)	28 (2,9)	299 (30,6)

РСК – реакция связывания комплемента (CFT – Complement fixation test);

РНГА – реакция непрямой гемагглютинации (IHA test – Indirect haemagglutination test);

* В скобках указаны проценты (percentage is indicated in parenthesis).

Таблица 2
Результаты серологических и патолого-анатомических исследований

Table 2
Results of serological and post-mortem studies

Номер животного	Титр антител			Характерные туберкулезные изменения
	РСК (антиген Украинского НИИЭВ)	РСК (антиген Сибирского НИВИ)	РНГА (антиген ВИЭВ)	
1	1:40	1:40	1:64	в средостенных лимфоузлах
2	1:20	1:10	1:32	в заглоточных, портальных лимфоузлах, печени
3	1:20	1:40	1:64	в заглоточных, средостенных, бронхиальных лимфоузлах
4	1:20	1:10	1:64	генерализованный туберкулез
5	1:160	1:40	1:128	«жемчужница»
6	1:80	1:20	1:32	в околоушных лимфоузлах, туберкулез легких
7	1:160	1:40	1:16	«жемчужница»
8	1:20	1:20	1:16	«жемчужница»
9	–	1:10	1:16	бронхиальный туберкулез, туберкулез легких
10	1:320	1:40	1:16	не выявлены (туберкулез/диагноз установлен бактериологическим методом)
11	1:20	1:40	1:16	в заглоточных лимфоузлах
12	1:40	1:10	1:16	в бронхиальных лимфоузлах
13	1:40	1:10	1:16	в бронхиальных лимфоузлах
14	1:20	1:10	–	в бронхиальных лимфоузлах, легких, вымени
15	1:160	1:10	–	в легких
16	1:80	1:40	1:128	генерализованный туберкулез
17	1:20	1:10	1:64	генерализованный туберкулез
18	1:20	1:10	–	генерализованный туберкулез
19	1:80	1:10	–	в печени
20	1:80	1:10	1:128	в заглоточных, подчелюстных лимфоузлах, печени, легких

У одного животного с высокими диагностическими титрами антител, полученными в реакциях со всеми исследуемыми антигенами, при патолого-анатомическом вскрытии характерных для туберкулеза изменений выявлено не было, диагноз установлен бактериологическим методом. Положительный результат в реакциях со всеми антигенами показывали сыворотки крови 14 животных, у каждого из них были обнаружены характерные туберкулезные изменения.

Из 20 убитых животных с положительными показаниями, полученными в реакции связывания комплемента с антигеном Сибирского НИВИ, туберкулез установили в 100% случаев. У одного животного с характерными для туберкулеза изменениями антитела в реакции связывания комплемента с антигеном Украинского НИИЭВ обнаружены не были. Также у 4 животных с установленным туберкулезом отрицательный результат был получен в реакции непрямой гемагглютинации с полисахаридным антигеном ВИЭВ. Произвести убой остальных животных с положительными показаниями серологических исследований не представилось возможным, также не был произведен

убой особей, реагирующих на введение туберкулина.

Прямой зависимости величины титров антител от тяжести туберкулезного процесса не установлено. При патолого-анатомическом исследовании выраженные формы туберкулеза обнаруживали у животных как с высокими, так и с низкими титрами антител. Так, у 3 животных с показаниями в реакции связывания комплемента с антигенами Украинского НИИЭВ и Сибирского НИВИ в титрах, не превышающих 1:20 и 1:10 соответственно, был обнаружен генерализованный туберкулез. Аналогичную картину наблюдали и у одного животного с отрицательными результатами в реакции непрямой гемагглютинации.

Таким образом, применение одной только внутрикожной туберкулиновой пробы для диагностики туберкулеза в неблагополучных стадах не позволяет выявить всех больных животных, что указывает на необходимость комплексных исследований.

Следует отметить, что большинство исследователей изучали различные серологические методы, в том числе реакции связывания комплемента и непрямой

геммагглютинации, для диагностики туберкулеза крупного рогатого скота с сыворотками крови от реагирующих на туберкулин животных. При этом отмечали их недостаточную эффективность. Известно, что туберкулиновая проба и серологические методы выявляют различные стадии инфекционного процесса.

Полученные в ходе настоящего исследования данные свидетельствуют о возможной блокаде Т-системы иммунитета и, как следствие, нарушении антигензависимой дифференцировки лимфоцитов в ответ на действия микобактерий. Результаты совпадают с данными других авторов, которые свидетельствуют о том, что у отдельных больных животных наступает блокада Т-системы, вследствие чего временно или постоянно может отсутствовать аллергия при сохранении гуморальных антител.

Снижение функций клеточного иммунитета в организме отдельных животных при туберкулезе обуславливает необходимость проведения расширенных исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В длительно неблагоприятных по туберкулезу стадах применение реакции связывания комплемента с туберкулезными антигенами и реакции непрямого геммагглютинации с полисахаридным антигеном ВИЭВ позволяет дополнительно выявлять больных животных, анергичных к туберкулину. В этих хозяйствах целесообразно проводить диагностические исследования комплексно, с применением серологических методов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

(п. п. 3, 4 см. REFERENCES)

1. Найманов А. Х., Овдиенко Н. П. Современные задачи в борьбе с туберкулезом крупного рогатого скота. *РавВетИнформ*. 2002; 4: 8–9. eLIBRARY ID: 26215680.
2. Нуратинов Р. А., Газимагомедов М. Г. Туберкулез. Махачкала: Планета-Дагестан; 2009. 336 с. eLIBRARY ID: 19513359.
3. Каркадиновская И. А. Выяснение причин выпадения аллергических реакций на туберкулин у ранее реагировавшего крупного рогатого скота. *Труды Ленинградского научно-исследовательского ветеринарного института*. Л., 1956; 6: 103–110.
4. Лакман Э. Д. РСК при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 1981; 4: 31–32.
5. Ротов В. И., Кокуричев П. И., Савченко П. Е., Трещ Ю. А. Туберкулез сельскохозяйственных животных. Под общ. ред. В. И. Ротова. 2-е изд., доп. и перераб. Киев: Урожай; 1978. 237 с.
6. Кассич Ю. Я., Борзяк А. Т., Кочмарский А. Ф. и др. Туберкулез животных и меры борьбы с ним. Под ред. Ю. Я. Кассича. Киев: Урожай; 1990. 303 с.
7. Кузин А. И., Овдиенко Н. П. Значение серологических методов в диагностике туберкулеза крупного рогатого скота. *Бюлл. ВИЭВ*. 1988; 65: 48–51.

10. Донченко А. С., Овдиенко Н. П., Донченко Н. А. Диагностика туберкулеза крупного рогатого скота. Отв. ред. А. С. Донченко. Новосибирск: Сиб. отд. РАСХН; 2004. 308 с.

11. Буряк Е. И. Эффективность разных способов прижизненной диагностики туберкулеза у крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 1986; 6: 23–26.

12. Солодовников В. Л. Т- и В-системы при туберкулезе крупного рогатого скота и овец: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1983. 23 с.

13. Колычев А. М., Кассич Ю. Я., Мартма О. В. и др. Туберкулез сельскохозяйственных животных. Под ред. В. П. Шишкова, В. П. Урбана. М.: Агропромиздат; 1991. 254 с.

REFERENCES

1. Naymanov A. Kh., Ovdienko N. P. Modern tasks of bovine tuberculosis control [Sovremennye zadachi v bor'be s tuberkulezom krupnogo rogatogo skota]. *RacVetInform*. 2002; 4: 8–9. eLIBRARY ID: 26215680. (in Russian)
2. Nuratinov R. A., Gazimagomedov M. G. Tuberculosis. Makhachkala. Planeta-Dagestan; 2009. 336 p. eLIBRARY ID: 19513359. (in Russian)
3. Beerwerth W. Mikobakterien in Viehränken und Oberflächengewässer. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 2003; 80: 398–401. (in German)
4. Schliesser T. Tuberkulose bei Horns und Wildtieren. *Prax. Pneum.* 1974; 28 (9): 511–515. (in German)
5. Karkadinovskaya I. A. Identification of reasons for allergic reactions to tuberculin in previously reactive cattle [Vyяснение prichin vypadeniya allergicheskikh reakcij na tuberkulin u ranee reagirovavshogo krupnogo rogatogo skota]. *Proceedings of Leningrad Research Veterinary Institute [Trudy Leningradskogo nauchno-issledovatel'skogo veterinarnogo instituta]*. L.; 1956; 6: 103–110. (in Russian)
6. Lakman E. D. CFT in bovine tuberculosis diagnosis. *Veterinariya*. 1981; 4: 31–32. (in Russian)
7. Rotov V. I., Kokurichev P. I., Savchenko P. E., Trach Yu. A. Tuberculosis of livestock [Tuberkulez sel'skohozyajstvennykh zhivotnykh]. Under general editorship of V. I. Rotov. 2nd edition, amended and revised. Kiev: Urozhay; 1978. 237 p. (in Russian)
8. Kassich Yu. Ya., Borzyak A. T., Kochmarsky A. F., et al. Animal tuberculosis and measures to control it [Tuberkulez zhivotnykh i меры bor'by s nim]. Ed. by Yu. Ya. Kassich. Kiev: Urozhay; 1990. 303 p. (in Russian)
9. Kuzin A. I., Ovdienko N. P. Significance of serological methods in bovine tuberculosis diagnosis [Znachenie serologicheskikh metodov v diagnostike tuberkuleza krupnogo rogatogo skota]. *Bulletin of VIEV*. 1988; 65: 48–51. (in Russian)
10. Donchenko A. S., Ovdienko N. P., Donchenko N. A. Diagnosis of bovine tuberculosis [Diagnostika tuberkuleza krupnogo rogatogo skota]. Responsible editor A. S. Donchenko. Novosibirsk: Siberian Branch of RASHN; 2004. 308 p. (in Russian)
11. Buryak E. I. Effectiveness of different in vivo diagnosis techniques of bovine tuberculosis [Effektivnost' raznykh sposobov prizhiznnoy diagnostiki tuberkuleza u krupnogo rogatogo skota]. *Veterinariya*. 1986; 6: 23–26. (in Russian)
12. Solodovnikov V. L. T- and B-systems in the context of tuberculosis in cattle and sheep [T- i V-sistemy pri tuberkuleze krupnogo rogatogo skota i ovec]: Author's summary, Thesis of Candidate of Biological Sciences. M., 1983. 23 p. (in Russian)
13. Kolychev A. M., Kassich Yu. Ya., Martma O. V., et al. Tuberculosis of livestock [Tuberkulez sel'skohozyajstvennykh zhivotnykh]. Ed. by V. P. Shishkov, V. P. Urban. M.: Agropromizdat; 1991. 254 p. (in Russian)

Поступила 23.11.2020

Принята в печать 21.12.2020

Received on 23.11.2020

Approved for publication on 21.12.2020

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Баратов Магомед Омарович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, заместитель директора по научной работе, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Magomed O. Baratov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Deputy Director for Research, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.

DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-38-43
УДК 619:616.98:578.831.31-02:636.22/.28

Роль респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота в этиологии респираторных болезней на молочных комплексах

С. В. Котенева¹, А. В. Нефедченко², Т. И. Глотова³, А. Г. Глов⁴

ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН),
Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия

¹ ORCID 0000-0003-2649-7505, e-mail: koteneva-sv@mail.ru

² ORCID 0000-0002-4181-4268, e-mail: homeovet@yandex.ru

³ ORCID 0000-0003-3538-8749, e-mail: t-glotova@mail.ru

⁴ ORCID 0000-0002-2006-0196, e-mail: glotov_vet@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Одним из этиологических агентов респираторных болезней является респираторно-синцитиальный вирус крупного рогатого скота (РСВ КРС). Возбудитель широко распространен во всех странах мира с интенсивным типом ведения животноводства и может вызывать патологию респираторного тракта самостоятельно или взаимодействуя с другими вирусами и бактериями. Актуальным является изучение распространения возбудителя на крупных молочных комплексах, выявление его во внутренних органах инфицированных животных, в том числе с количественной оценкой накопления в них. Целью работы было изучение особенностей распространения респираторно-синцитиальной инфекции, частоты выявления вируса в пробах биологического материала как в моноварианте, так и в ассоциациях с вирусами инфекционного ринотрахеита (ИРТ КРС) и вирусной диареи – болезни слизистых оболочек (ВД-БС КРС) крупного рогатого скота, бактериями семейства *Pasteurellaceae* на крупных молочных комплексах, неблагополучных по респираторным болезням животных, с определением концентрации вируса в органах респираторного тракта. В моноварианте РСВ КРС присутствовал в 9,2% исследованных проб биоматериала, в ассоциациях с вирусами ИРТ и ВД-БС КРС – в 1,4 и 5,2% проб соответственно. Количество проб, содержащих одновременно РСВ КРС и бактерии семейства *Pasteurellaceae*, составило 10,8%. Максимально вирус присутствовал в 26,6% проб от числа исследованных. Методом полимеразной цепной реакции в реальном времени геном вируса выявляли в легких (13,1%), в экссудате трахеи, бронхов и носовых синусов (6,0%), носовых выделениях (4,0%), бронхах (1,7%). Реже вирус присутствовал в пробах слизистой оболочки трахеи и бронхов (1,1%) и легочных лимфатических узлах (0,8%). Количественная оценка РНК РСВ КРС показала, что максимальное накопление вируса происходило в легких и носовых выделениях, что подтверждает данные об его тропизме к интерстицию легочной ткани.

Ключевые слова: Крупный рогатый скот, респираторные болезни, респираторно-синцитиальный вирус, полимеразная цепная реакция, синергизм.

Благодарность: Работа выполнена за счет бюджетных средств СФНЦА РАН в рамках выполнения государственного задания по теме: «Изучение современных особенностей эпизоотического проявления вирусно-бактериальных болезней животных, разработка современных средств и методов диагностики на основе методов молекулярной биологии и оценка их эффективности».

Для цитирования: Котенева С. В., Нефедченко А. В., Глотова Т. И., Глов А. Г. Роль респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота в этиологии респираторных болезней на молочных комплексах. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 38–43. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-38-43.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Глотова Татьяна Ивановна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии – диагностический центр СФНЦА РАН, Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, 630501, Россия, Новосибирская обл., Новосибирский район, пос. Краснообск, e-mail: t-glotova@mail.ru.

UDC 619:616.98:578.831.31-02:636.22/.28

Role of bovine respiratory syncytial virus in etiology of respiratory diseases on milk farms

S. V. Koteneva¹, A. V. Nefedchenko², T. I. Glotova³, A. G. Glotov⁴

Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSCA RAS),
Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russia

¹ ORCID 0000-0003-2649-7505, e-mail: koteneva-sv@mail.ru

² ORCID 0000-0002-4181-4268, e-mail: homeovet@yandex.ru

³ ORCID 0000-0003-3538-8749, e-mail: t-glotova@mail.ru

⁴ ORCID 0000-0002-2006-0196, e-mail: glotov_vet@mail.ru

SUMMARY

Bovine respiratory syncytial virus (BRSV) is one of the etiological agents of respiratory diseases. The agent spreads widely in all the countries with intensive livestock farming and can cause pathologic changes in respiratory system either alone or in combination with other viruses and bacteria. It is a matter of crucial importance to study spread of the agent on large milk farms, to detect it in the internal organs of infected animals, and to quantify virus accumulation in them. The purpose of the research was to study peculiarities of RS infection spread, frequency of the virus detection in biomaterial samples (both alone and in associations with infectious bovine rhinotracheitis (IBR) and bovine viral diarrhea/mucosal disease viruses (BVDV) and with *Pasteurellaceae* bacteria) on large milk farms affected by respiratory animal diseases; and to determine virus concentration in the respiratory organs. BRSV alone was reported in 9.2% of the tested biomaterial samples, as associated with IBR and BVDV it was reported in 1.4% and 5.2% of samples, correspondingly. The number of samples containing simultaneously BRSV and *Pasteurellaceae* bacteria was 10.8%. The virus was reported in a maximum of 26.6% of the tested samples. With the help of real-time PCR the virus genome was detected in lungs (13.1%), in exudate from trachea, bronchi and nasal sinuses (6.0%), in nasal discharge (4.0%) and in bronchi (1.7%). The virus was seldom detected in trachea and bronchial mucosa (1.1%) and in pulmonary lymph nodes (0.8%). Quantification of BRSV RNA demonstrated that maximum virus accumulation was observed in lungs and nasal charges and it confirms data on its tropism to pulmonary interstitium.

Keywords: Cattle, respiratory diseases, respiratory syncytial virus (RSV), polymerase chain reaction, synergism.

Acknowledgements: The research was financed by the SFSCA budget (the Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences) within the framework of the official program "Studying present day peculiarities of epizootic manifestation of viral and bacterial animal diseases, developing modern diagnostic methods and tools based on molecular biology and assessing their effectiveness".

For citation: Koteneva S. V., Nefedchenko A. V., Glotova T. I., Glotov A. G. Role of bovine respiratory syncytial virus in the etiology of respiratory diseases on milk farms. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 38–43. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-38-43.

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

For correspondence: Tatyana I. Glotova, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Biotechnologies, Diagnostic Center, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSCA RAS), Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East, 630501, Russia, Novosibirsk Region, Novosibirsk Raion, Krasnoobsk, e-mail: t-glotova@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Респираторные болезни телят занимают одно из ведущих мест среди патологий, распространенных у крупного рогатого скота в Российской Федерации. Они приводят к падежу или снижению скорости роста животных, затратам на лечение, проведение диагностических и профилактических мероприятий [1, 2]. Важную роль в структуре инфекционной патологии органов дыхания играет респираторно-синцитиальный вирус крупного рогатого скота (РСВ КРС, BRSV), широко распространенный во всех странах мира с интенсивным типом ведения животноводства [3, 4].

Возбудителем респираторно-синцитиальной инфекции (РСИ КРС) является оболочечный РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Pneumoviridae*, роду *Orthopneumovirus*, репродуцирующий главным образом в клетках респираторного эпителия.

К инфицированию наиболее восприимчивы телята до 6 месяцев, но могут болеть и взрослые животные. Инкубационный период при РСИ КРС составляет 2–5 суток. В начале заболевания у животных может отмечаться угнетение, повышение температуры тела, кашель, ринит, ринофарингит. При тяжелом течении возможно присоединение вторичной инфекции и развитие бронхита, бронхиолита, пневмонии. Основными осложнениями проявления инфекции могут быть эмфизема легких, дыхательная недостаточность и острая фибринозная пневмония. Патолого-анатомические изменения регистрируют только в легких.

Лабораторная диагностика РСИ КРС включает обнаружение в патологическом материале от больных животных антигена вируса в реакции иммунофлюо-

ресценции (РИФ) или рибонуклеиновой кислоты (РНК) вируса в полимеразной цепной реакции (ПЦР), выделение вируса в культуре клеток и установление сероконверсии к вирусу у переболевших животных [5]. В связи с высокой лабильностью и слабой способностью возбудителя к репликации в культурах клеток вирусологические исследования малоэффективны, требуют больших затрат и времени [6].

В настоящее время является актуальным изучение эпизоотической ситуации по РСИ КРС в крупных молочных комплексах с наличием импортного скота, а также изучение тропизма вируса к органам респираторного тракта с количественной оценкой его накопления в них. Заболевание может протекать самостоятельно или в ассоциации с другими вирусными инфекциями. Первоначальное размножение РСВ КРС в эпителиальных клетках приводит к понижению уровня защиты респираторного тракта животных и облегчает колонизацию и вторичную инфекцию нижних дыхательных путей бактериями. Описано синергетическое взаимодействие вируса и бактерий семейства *Pasteurellaceae* [7, 8].

Целью работы было изучение распространения РСИ КРС, частоты выявления возбудителя в пробах биологического материала в моноварианте и в ассоциациях с вирусами инфекционного ринотрахеита (ИРТ КРС) и вирусной диареи – болезни слизистых оболочек (ВД-БС КРС) крупного рогатого скота, а также бактериями семейства *Pasteurellaceae* в крупных молочных комплексах, неблагополучных по респираторным болезням животных, а также определение концентрации РСВ КРС в органах респираторного тракта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были выполнены в 2010–2020 гг. в 7 крупных молочных комплексах Сибири, где специфическую профилактику РСИ КРС не проводили или применяли только инаktivированные вакцины. Исследовали следующие пробы биологического материала: выделения из носа, трахеальный и бронхиальный экссудаты, кусочки бронхов и легких, отобранные от павших или вынужденно убитых животных с признаками поражения органов дыхания. После отбора образцы доставляли в лабораторию в замороженном состоянии в течение суток. Всего исследовали 1040 проб, которые предварительно растирали в отдельных фарфоровых ступках со стерильным песком, гомогенизировали и готовили 10%-е суспензии на физиологическом растворе, после чего центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин, затем 100 мкл осветленной надосадочной жидкости использовали для выделения РНК.

Выделение РНК вируса проводили с использованием набора «РИБО-сорб» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) в соответствии с рекомендациями производителя. Обратную транскрипцию для получения кДНК осуществляли с помощью набора «РЕВЕРТА-L» того же производителя.

Для выявления геномов трех вирусов в пробах биоматериала использовали ПЦР с электрофоретической детекцией результатов, а для количественной оценки РНК РСВ КРС – ПЦР в режиме реального времени [6, 9]. Количественную оценку концентрации вирусной РНК в пробах биологического материала от больных животных проводили относительно уровня мРНК гена GAPDH крупного рогатого скота и выражали в $\log_{10}$ копий РНК вируса на 10^5 копий GAPDH ($\log_{10}$ BRSV/GAPDH) [10].

Серологическими методами исследовали 6000 проб сыворотки крови. Антитела к вирусам ИРТ КРС и ВД-БС КРС выявляли в реакции микронейтрализации в перевиваемой линии культуры клеток MDBK согласно стандарту Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ, 2019) с использованием штамма «ТК-А» и цитопатогенного штамма NADL в качестве антигена,

к РСВ КРС – в реакции непрямой гемагглютинации. Для скрининговых серологических исследований пробы сыворотки крови отбирали от животных однократно, а для определения сероконверсии – двукратно с интервалом 30 суток. Персистентную инфекцию вирусом ВД-БС КРС диагностировали при выявлении РНК вируса в парных пробах сыворотки крови, отобранной с интервалом 30 суток.

Выделение бактерий семейства *Pasteurellaceae* проводили на искусственных питательных средах согласно методическим указаниям по лабораторной диагностике пастереллезов животных и птиц, а их генотипирование – при помощи ПЦР [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения частоты выявления РСВ КРС в моноварианте и в ассоциациях с вирусами ИРТ КРС, ВД-БС КРС и бактериями семейства *Pasteurellaceae* методом ПЦР исследовали 1040 проб биоматериала, отобранных от павших и вынужденно убитых телят в возрасте до 6 месяцев с признаками поражения респираторных органов. У всех животных при патолого-анатомическом вскрытии выявляли наличие острой фибринозной или катаральной бронхопневмонии, а иногда интерстициальную и легочную эмфиземы и признаки разрушения паренхимы легкого. Результаты исследования представлены в таблице.

Из данных таблицы видно, что в моноварианте РСВ КРС присутствовал в 9,2% исследованных проб биоматериала, а в ассоциациях с вирусами ИРТ и ВД-БС КРС – в 1,4 и 5,2% проб соответственно. Максимальное количество проб (10,8%) содержало одновременно РСВ КРС и бактерии семейства *Pasteurellaceae*. Всего РСВ КРС был выявлен в 26,6% проб от числа исследованных [12, 13].

Респираторно-синцитиальный вирус в моноварианте чаще присутствовал в легких и бронхах, а в ассоциации с вирусом ИРТ – в трахее и слизистой носа, реже – в легких крупного рогатого скота. Вместе с возбудителем ВД-БС КРС и бактериями семейства *Pasteurellaceae* РСВ КРС выявляли в легких.

Таблица

Частота выявления РСВ КРС в моноварианте и в ассоциациях с вирусами ИРТ, ВД-БС КРС и бактериями семейства *Pasteurellaceae* при помощи ПЦР с электрофоретической детекцией [12, 13]

Table

Frequency of BRSV detection: alone and in association with IBR, BVDV and *Pasteurellaceae* bacteria using PCR with electrophoretic detection [12, 13]

n = 1040

Наименование возбудителя, ассоциации возбудителей	Количество положительных проб	Процент положительных проб от числа исследованных
РСВ КРС в моноварианте	96	9,2
РСВ + ИРТ КРС	15	1,4
РСВ + ВД-БС КРС	54	5,2
РСВ КРС + <i>Pasteurellaceae</i> в том числе бактерии:	112	10,8
<i>Pasteurella multocida</i>	42	4,0
<i>Mannheimia haemolytica</i>	70	6,7
Всего	277	26,6

Особую роль в синергизме инфекционных агентов многие авторы отводят вирусу ВД-БС КРС, который за счет иммуносупрессивного эффекта может повышать восприимчивость животных к инфицированию другими вирусными и бактериальными патогенами [7, 8, 14, 15].

По нашим данным, в крупных молочных комплексах с наличием в них около 3% персистентно инфицированных телят уровень инфицированности животных вирусом ВД-БС КРС достигает 90% и выше. Уровень серопозитивности животных всех половозрастных групп к РСВ КРС в таких стадах составляет в среднем 67,5%, а геном вируса выявляют чаще, чем в стадах без присутствия персистентно инфицированных животных [9].

Таким образом, на крупных молочных комплексах установлено смешанное течение ВД-БС и РСИ КРС. Выявлена взаимосвязь между уровнем инфицированности животных вирусом ВД-БС КРС, присутствием в исследованных хозяйствах животных, персистентно инфицированных этим возбудителем, и частотой проявления клинических признаков респираторных болезней у телят, протекающих с участием респираторно-синцитиального вируса [12].

Часто после предрасполагающей вирусной инфекции происходит развитие вторичной бактериальной бронхопневмонии, поскольку повреждение эпителия дыхательных путей приводит к нарушению мукоцилиарного клиренса и облегчению продвижения бактерий в нижние отделы респираторного тракта. Кроме того, респираторные вирусы вызывают подавление фагоцитарной активности альвеолярных макрофагов и нарушение внутриклеточных бактерицидных процессов. Также респираторные вирусы могут способствовать адгезии бактерий, усиливать экспрессию поверхностных белков клеток хозяина, к которым в дальнейшем могут присоединяться бактерии [7, 16].

В основном развитие вторичной бактериальной бронхопневмонии обуславливается присутствием бактерий семейства *Pasteurellaceae*, а именно *Mannheimia haemolytica* и *Pasteurella multocida* [8, 9, 15].

Важным аспектом патогенеза РСИ КРС является подавление неспецифических механизмов иммунной защиты респираторного тракта, а также инициация и усиление бактериальной колонизации легких после первичного размножения возбудителя. Вирус может вызывать бронхиты, пневмонии и эмфиземы легких самостоятельно, но главным его свойством является иммуносупрессия и формирование предрасположенности к возникновению бактериальных пневмоний, в частности легочного пастереллеза [5, 8].

Результаты проведенных исследований показали, что РСИ КРС распространена в крупных молочных комплексах Сибири и может протекать как в моноварианте, так и в различных ассоциациях [17]. Синергическое взаимодействие микроорганизмов различных классов играет значительную роль в возникновении массовых бронхопневмоний у крупного рогатого скота в естественных условиях. При разработке эффективных мер специфической профилактики данной патологии крупного рогатого скота, особенно при завозе животных из разных источников, важным является понимание и расшифровка механизмов, способствующих развитию смешанных форм инфекций.

Ранее нами было изучено распространение РСВ в органах респираторного тракта телят, больных респираторно-синцитиальной инфекцией, при помощи ПЦР с электрофоретической детекцией продуктов амплификации, однако концентрацию РНК вируса определить не удалось по причине ограничений метода [3].

Для изучения распространения вируса в органах верхнего и нижнего отделов респираторного тракта положительные пробы биоматериала дополнительно исследовали методом ПЦР в режиме реального времени и установили, что геном РСВ КРС чаще присутствовал в легких (13,1% от числа исследованных проб). Кроме того, вирус обнаруживали в экссудате трахеи, бронхов и носовых синусов, что составило 6,0% проб. Процент выявления вируса в носовых выделениях был равен 4,04, а в бронхах – 1,7. Реже вирус обнаруживали на слизистой трахеи и бронхов (1,1%) и в легочных лимфатических узлах (0,8%). Полученные данные свидетельствуют о широком распространении вируса в органах верхнего и нижнего отделов респираторного тракта.

Большой интерес представляло количественное определение содержания вируса в разных отделах респираторного тракта инфицированных животных. Максимальные концентрации генома вируса выявляли в легких ($1,3 \pm 0,5 - 4,8 \pm 0,47 \log_{10}$ копий РНК BRSV/GAPDH), носовых выделениях ($1,5 \pm 0,75 - 2,1 \pm 0,25 \log_{10}$ копий РНК BRSV/GAPDH) и экссудатах трахеи, бронхов, а также носовых синусов ($0,3 \pm 0,21 - 2,8 \pm 0,15 \log_{10}$ копий РНК BRSV/GAPDH). Выявленные в ходе исследования различия концентрации вируса в пробах биоматериала могут свидетельствовать о разных стадиях развития инфекционного процесса у животных, во время которых они были отобраны.

Приведенные выше факты свидетельствуют о значимости респираторно-синцитиального вируса в структуре инфекционной патологии респираторных органов крупного рогатого скота и его роли в патогенезе смешанных респираторных болезней.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований расширяют представления об особенностях течения респираторно-синцитиальной инфекции у животных в крупных молочных комплексах и ее роли в патогенезе моно- и смешанных инфекций респираторного тракта крупного рогатого скота. Показано присутствие РСВ КРС в 26,6% проб биоматериала от больных и павших телят до 6-месячного возраста, отобранных в период массовых вспышек респираторных болезней, в частности острой фибринозной бронхопневмонии. В моноварианте его выявили в 9,2% случаев, а в ассоциациях с вирусами ИРТ и ВД-БС КРС – в 1,4 и 5,2% проб биоматериала соответственно. Количество проб, содержащих РСВ КРС и бактерии семейства *Pasteurellaceae*, составило 10,8%, что подтверждает синергетическое взаимодействие между инфекционными агентами различных нозологических групп.

В некоторых хозяйствах частота проявления РСИ КРС находилась в прямой зависимости от уровня инфицированности животных вирусом ВД-БС КРС, а также от наличия в стадах животных, персистентно инфицированных этим вирусом [12].

Количественный анализ содержания РНК РСВ КРС в исследованных пробах биоматериала показал, что

максимальное его накопление происходило в легких и носовых выделениях, что подтверждает данные о тропизме вируса к интерстицию легочной ткани, и это способствует возникновению острой фибринозной бронхопневмонии. Метод количественной оценки вирусов и бактерий методом ПЦР в режиме реального времени может быть полезным инструментом для изучения патогенеза смешанных вирусно-бактериальных инфекций в естественных условиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 7, 8, 14–16 см. REFERENCES)

1. Крюков Н. Н., Зудилина З. Ф., Евдокимов С. И. Вирусные респираторные болезни крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 1976; 6: 111–113.
2. Глотов А. Г., Петрова О. Г., Глотова Т. И., Нефедченко А. В., Татарчук А. Т., Котенева С. В. и др. Распространение вирусных респираторных болезней крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2002; 3: 17–21. eLIBRARY ID: 22435011.
3. Котенева С. В., Войтова К. В., Глотова Т. И., Строганова И. Я., Глотов А. Г. Частота выявления генома респираторно-синцитиального вируса у крупного рогатого скота при вспышках бронхопневмоний на молочных комплексах. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2016; 3: 18–21. eLIBRARY ID: 26538902.
4. Кирпиченко В. В., Кононова С. В., Кононов А. В., Бьядовская О. П., Манин Б. Л., Спрыгин А. В. Культуральные свойства вируса респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота штамма «АБ 1908». *Ветеринария сегодня*. 2019; 4 (31): 31–36. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-4-31-31-36.
5. Глотов А. Г., Глотова Т. И. Респираторно-синцитиальная инфекция крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2009; 11: 18–23. eLIBRARY ID: 12968708.
6. Глотов А. Г., Глотова Т. И., Строганова И. Я. Выявление респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота при помощи ОТ-ПЦР. *Вопросы вирусологии*. 2011; 56 (5): 34–37. eLIBRARY ID: 17254354.
7. Глотова Т. И., Семенова О. В., Котенева С. В., Глотов А. Г. Выявление ассоциаций вирусов и бактерий респираторного комплекса у импортного скота при острых вспышках бронхопневмоний на молочных комплексах. *Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства*. 2014; 2 (7): 355–358. eLIBRARY ID: 22635644.
8. Нефедченко А. В., Глотов А. Г., Котенева С. В., Глотова Т. И. Разработка и испытание полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для идентификации и количественного определения респираторно-синцитиального вируса крупного рогатого скота. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2020; 38 (3): 145–150. DOI: 10.17116/molgen202038031145.
9. Нефедченко А. В., Шиков А. Н., Глотов А. Г., Глотова Т. И., Терновой В. А., Агафонов А. П. и др. Разработка метода идентификации и генотипирования бактерий *Pasteurella multocida* и *Mannheimia haemolytica* на основе полимеразной цепной реакции и филогенетический анализ культур бактерий, выделенных от крупного рогатого скота. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2016; 34 (2): 62–66. DOI: 10.18821/0208-0613-2016-34-2-62-66.
10. Строганова И. Я. Диагностика респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота и особенности проявления болезни в современных условиях ведения животноводства: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск; 2011. 39 с. Режим доступа: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01004858719#?page=1>.
11. Войтова К. В. Диагностика респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Новосибирск; 2011. 20 с. Режим доступа: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01004846487#?page=1>.
12. Глотов А. Г., Глотова Т. И., Семенова О. В., Котенева С. В., Терентьева Т. Е. Вирусные и бактериальные агенты респираторного комплекса, вызывающие патологию у крупного рогатого скота в хозяйствах Сибири. *Сейфуллиннің 120 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары-10: Мемлекеттің индустриалды-инновациялық саясатын құрудағы бәсекеге қабілетті кадрларды дайындау келешегі мен ғылымның ролі» атты халықаралық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы международной научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения-10: «Новые перспективы подготовки конкурентоспособных кадров и роль науки в формировании индустриально-инновационной политики страны», посвященной 120-летию со дня рождения С. Сейфуллина*. 2014; 1 (1): 98–100. Режим доступа: https://kazatu.edu.kz/assets//science/sf10_vet_109.pdf.

REFERENCES

1. Kryukov N. N., Zudilina Z. F., Yevdokimov S. I. Viral respiratory tract infections in cattle [Virusnye respiratornye bolezni krupnogo rogatogo skota]. *Veterinariya*. 1976; 6: 111–113. (in Russian)
2. Glotov A. G., Petrova O. G., Glotova T. I., Nefedchenko A. V., Tatarchuk A. T., Koteneva S. V., et al. Spread of viral diseases of the bovine respiratory tract [Rasprostraneniye virusnykh respiratornykh boleznej krupnogo rogatogo skota]. *Veterinariya*. 2002; 3: 17–21. eLIBRARY ID: 22435011. (in Russian)
3. Koteneva S. V., Voytova K. V., Glotova T. I., Stroganova I. Ya., Glotov A. G. Frequency of the genome detection of bovine respiratory syncytial virus from cattle with outbreaks of bronchopneumonia in the big dairy farms. *Russian Veterinary Journal*. 2016; 3: 18–21. eLIBRARY ID: 26538902. (in Russian)
4. Kirpichenko V. V., Kononova S. V., Kononov A. V., Byadovskaya O. P., Manin B. L., Sprygina A. V. Cultural properties of bovine respiratory syncytial virus strain AB 1908. *Veterinary Science Today*. 2019; 4 (31): 31–36. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-4-31-31-36.
5. Glotov A. G., Glotova T. I. Respiratory syncytial virus (BRV). *Veterinariya*. 2009; 11: 18–23. eLIBRARY ID: 12968708. (in Russian)
6. Glotov A. G., Glotova T. I., Stroganova I. Ya. Detection of bovine respiratory syncytial virus by rt-PCR. *Voprosy Virusologii*. 2011; 56 (5): 34–37. eLIBRARY ID: 17254354. (in Russian)
7. Fulton R. W., Purdy C. W., Confer A. W., Saliki J. T., Loan R. W., Briggs R. E., Burge L. J. Bovine viral diarrhoea viral infections in feeder calves with respiratory disease: interactions with *Pasteurella* spp., parainfluenza-3 virus, and bovine respiratory syncytial virus. *Can. J. Vet. Res.* 2000; 64 (3): 151–159. PMID: 10935880; PMCID: PMC1189606.
8. Ellis J. A. The immunology of the bovine respiratory disease complex. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2001; 17 (3): 535–550. DOI: 10.1016/S0749-0720(15)30005-0.
9. Glotova T. I., Semenova O. V., Koteneva S. V., Glotov A. G. Detection of viruses and bacteria associations of respiratory complex in imported cattle in big dairy farms. *Sbornik nauchnykh trudov Stavropol'skogo nauchno-issledovatel'skogo instituta zhivotnovodstva i kormoproizvodstva*. 2014; 2 (7): 355–358. eLIBRARY ID: 22635644. (in Russian)
10. Nefedchenko A. V., Glotov A. G., Koteneva S. V., Glotova T. I. Developing and testing a real-time polymerase chain reaction to identify and quantify bovine respiratory syncytial viruses. *Mol. Genet. Microbiol. Virol.* 2020; 35: 168–173. DOI: 10.3103/S0891416820030052.
11. Nefedchenko A. V., Shikov A. N., Glotov A. G., Glotova T. I., Ternovoy V. A., Agafonov A. P., et al. Development of a method for identification and genotyping of *Pasteurella multocida* and *Mannheimia haemolytica* bacteria using polymerase chain reaction and phylogenetic analysis of bacterial cultures isolated from cattle. *Mol. Genet. Microbiol. Virol.* 2016; 31: 75–81. DOI: 10.3103/S0891416816020063.
12. Stroganova I. Ya. Diagnosis of bovine respiratory syncytial infection and specific manifestation of the disease on modern livestock farms [Diagnostika respiratorno-sincital'noj infekcii krupnogo rogatogo skota i osobennosti proyavleniya bolezni v sovremennykh usloviyakh vedeniya zhivotnovodstva]: Author's summary of Doctor's Thesis (Biology). Novosibirsk; 2011. 39 p. Available at: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01004858719#?page=1>. (in Russian)
13. Voytova K. V. Diagnosis of bovine respiratory syncytial infection using polymerase chain reaction [Diagnostika respiratorno-sincital'noj infekcii krupnogo rogatogo skota metodom polimeraznoj cepnoj reakcii]: Author's summary of Candidate's Thesis (Veterinary Medicine). Novosibirsk; 2011. 20 p. Available at: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01004846487#?page=1>. (in Russian)
14. Chase C. C. The impact of BVDV infection on adaptive immunity. *Biologicals*. 2013; 41 (1): 52–60. DOI: 10.1016/j.biologicals.2012.09.009.
15. Grooms D. L. Role of bovine viral diarrhoea virus in the bovine respiratory disease complex. *The Bovine Practitioner*. 1998; 32 (2): 7–12. DOI: 10.21423/bovine-vol1998no32.2p7-12.
16. Aranda S. S., Polack F. P. Prevention of pediatric respiratory syncytial virus lower respiratory tract illness: Perspectives for the next decade. *Front. Immunol.* 2019; 10: 1006. DOI: 10.3389/fimmu.2019.01006.
17. Glotov A. G., Glotova T. I., Semenova O. V., Koteneva S. V., Terentyeva T. Ye. Viral and bacterial agents of bovine respiratory diseases causing pathological changes in cattle on Siberian farms [Virusnye i bakterial'nye agenty respiratornogo kompleksa, vyzyvayushchie patologiyu u krupnogo rogatogo skota v hozyajstvakh Sibiri]. *Сейфуллиннің 120 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары-10: Мемлекеттің индустриалды-инновациялық саясатын құрудағы бәсекеге қабілетті кадрларды дайындау келешегі мен ғылымның ролі» атты халықаралық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Proceedings of the International Scientific and Theoretical Conference “Seifullin's Readings-10: “New prospects for training*

competitive staff and role of science in national industrial and innovation policy", devoted to the 120th anniversary of the birth of S. Seifullin. 2014; 1 (1): 98–100. Available at: https://kazatu.edu.kz/assets/i/science/sf10_vet_109.pdf. (in Russian)

Поступила 22.01.2021

Принята в печать 01.03.2021

Received on 22.01.2021

Approved for publication on 01.03.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Котенева Светлана Владимировна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии – диагностический центр ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН (СФНЦА РАН), Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия.

Нефедченко Алексей Васильевич, доктор ветеринарных наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории биотехнологии – диагностический центр ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН (СФНЦА РАН), Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия.

Глотова Татьяна Ивановна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии – диагностический центр ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН (СФНЦА РАН), Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия.

Готов Александр Гаврилович, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник – заведующий лабораторией биотехнологии – диагностический центр ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН (СФНЦА РАН), Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока, пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия.

Svetlana V. Koteneva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Biotechnologies, Diagnostic Center, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSCA RAS), Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russia.

Alexey V. Nefedchenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory of Biotechnologies, Diagnostic Center, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSCA RAS), Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russia.

Tatyana I. Glotova, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Biotechnologies, Diagnostic Center, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSCA RAS), Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russia.

Alexander G. Glotov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher – Head of Laboratory of Biotechnologies, Diagnostic Center, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSCA RAS), Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, Russia.

Эффективность вакцин против ньюкаслской болезни производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» в отношении актуальных вирусов VII генотипа

С. В. Фролов¹, Н. В. Мороз², И. А. Чвала³, В. Н. Ирза⁴

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ ORCID 0000-0001-6802-9940, e-mail: frolov@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-9672-8594, e-mail: moroz@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-1659-3256, e-mail: chvala@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0001-7489-1772, e-mail: irza@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В Российской Федерации в 2019 году произошло резкое обострение ситуации по ньюкаслской болезни птиц с распространением вируса субгенотипа VII-L по всей территории страны — от Приморского края до Курской области. В итоге зарегистрировано 17 неблагополучных пунктов, где содержалось невакцинированное поголовье в личных подсобных хозяйствах граждан. В данной работе оценивали иммуногенность вакцин производства ФГБУ «ВНИИЗЖ», а также эффективность различных схем вакцинации для профилактики ньюкаслской болезни в отношении актуальных для Российской Федерации вирусов VII генотипа. Известно, что вирулентность циркулирующего в настоящее время возбудителя ньюкаслской болезни заметно возросла по сравнению с вирусами, выделенными в предыдущие годы, и он способен преодолевать поствакцинальный иммунитет, создаваемый живыми вакцинами. В результате исследований было установлено, что вакцины производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» обладают высокой иммуногенной активностью в отношении вирусов VII генотипа, что позволяет эффективно профилактировать эту болезнь при их использовании в составе стандартных схем вакцинации. Схема вакцинации с двукратным применением живой вакцины из штамма «Ла-Сота» формирует иммунитет у 100% цыплят, так же как и «полная» схема вакцинации с использованием инактивированных вакцин. Применение живых вакцин в схеме вакцинации с однократным и двукратным введением предотвращает гибель птиц и клиническое проявление болезни, однако не препятствует репликации вируса, в то время как добавление в схему иммунизации инактивированной вакцины предотвращает, кроме того, и репликацию вирулентного вируса. Таким образом, использование живых и инактивированных вакцин отечественного производства, прежде всего на основе штамма «Ла-Сота», с последующим контролем напряженности иммунитета и проведением ревакцинаций по показаниям является главным инструментом в борьбе с заболеванием.

Ключевые слова: Вирулентный вирус ньюкаслской болезни VII генотипа, вакцины против ньюкаслской болезни, эффективность вакцин против ньюкаслской болезни.

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

Для цитирования: Фролов С. В., Мороз Н. В., Чвала И. А., Ирза В. Н. Эффективность вакцин против ньюкаслской болезни производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» в отношении актуальных вирусов VII генотипа. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 44–51. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-44-51.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Фролов Сергей Владимирович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьево, e-mail: frolov@arriah.ru.

UDC 619:616.98:578.831.11:615.371

Effectiveness of vaccines produced by the Federal State-Financed Institution “ARRIAH” against topical genotype VII Newcastle disease viruses

S. V. Frolov¹, N. V. Moroz², I. A. Chvala³, V. N. Irza⁴

FGBI “Federal Centre for Animal Health” (FGBI “ARRIAH”), Vladimir, Russia

¹ ORCID 0000-0001-6802-9940, e-mail: frolov@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-9672-8594, e-mail: moroz@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-1659-3256, e-mail: chvala@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0001-7489-1772, e-mail: irza@arriah.ru

SUMMARY

In 2019, the situation regarding Newcastle disease in the Russian Federation worsened radically due to the spread of NDV subgenotype VII-L throughout the country from the Primorsky Krai to the Kursk Oblast. As a result, 17 infected settlements with backyard farms where unvaccinated poultry was kept were registered. In this study, immunogenicity of the vaccines produced by the FGBI "ARRIAH", as well as the effectiveness of various vaccination schedules to prevent genotype VII NDVs, relevant for the Russian Federation, was studied. It is known that the currently circulating ND agent is significantly more virulent compared to the viruses isolated in previous years, and it is able to bypass the immunity provided by live vaccines. Test results demonstrated that the vaccines against genotype VII NDVs produced by the FGBI "ARRIAH" are highly immunogenic, which allows to effectively prevent the disease when using them as part of a standard vaccination schedule. A 2-dose vaccination schedule using live vaccine from the La Sota strain as well as the "complete" vaccination schedule using inactivated vaccines provides immunity in 100% of chicks. The use of live vaccines in a single- and double-dose vaccination schedules prevents mortality and clinical disease in poultry, but does not prevent virus replication, while the addition of an inactivated vaccine to the immunization schedule does prevent the replication of the virulent virus. Thus, the use of domestically produced live and inactivated vaccines, primarily the ones containing the La Sota strain, with the following control of the immunity level and booster vaccination, if required, is the main tool for the disease control.

Keywords: Virulent genotype VII Newcastle disease virus, ND vaccines, effectiveness of ND vaccines.

Acknowledgements: The study was funded by the FGBI "ARRIAH" within the framework of "Veterinary Welfare" research work.

For citation: Frolov S. V., Moroz N. V., Chvala I. A., Irza V. N. Effectiveness of vaccines produced by the Federal State-Financed Institution "ARRIAH" against topical genotype VII Newcastle disease viruses. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 44–51. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-44-51.

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

For correspondence: Sergey V. Frolov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: frolov@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Ньюкаслская болезнь (НБ) – высококонтагиозное вирусное заболевание птиц, главным образом куриных, характеризующееся поражением органов дыхательного и пищеварительного трактов, центральной нервной системы. Заболевание регистрируется во всем мире, оно включено в список нотифицируемых болезней Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), так как наносит колоссальный экономический ущерб и препятствует международной торговле [1–3].

К настоящему времени определены 9 генотипов вирусов класса 1 (авирулентные штаммы) и не менее 10 – из класса 2 (вакцинные и вирулентные штаммы). Это самая разнообразная и постоянно эволюционирующая группа вирусов. Вирулентные вирусы рода *Avian orthoavulavirus 1* (AOAV-1), известные ранее как *Avian avulavirus 1*, *Avian paramyxovirus 1*, или вирусы ньюкаслской болезни (НБ), способны заражать и вызывать заболевание у широкого спектра видов домашних и диких птиц во всем мире. *Avian orthoavulavirus 1* также обладает высокой изменчивостью. В настоящее время классификация AOAV-1 включает 2 класса, более 20 генотипов, часть из которых разбито дополнительно примерно на 30 подтипов. В последние десятилетия наиболее актуальными для птицеводства являются: генотип VII, широко распространенный в странах Старого Света, и генотип V (включая вновь выделенный генотип XIX), циркулирующий в странах Америки.

Появление новых вирулентных штаммов генотипов класса 2, вызывающих эпизоотии, связано с тем, что вирусы разных генотипов одновременно развиваются в различных географических зонах по всему миру, чему способствует большое видовое разнообразие птиц, восприимчивых к НБ [1, 4]. Эпизоотии НБ во мно-

гих странах Азии и Европы за последние 20 лет были вызваны вирусами разных подтипов VII генотипа [1–3]. Две линии генотипа VII класса 2 (ранее названные субгенотипами VIIh и VIIi) были выявлены в Индонезии в 2010 г. [5]. В течение следующих нескольких лет первая из них проникла в Малайзию [6], Китай [7], ряд стран Южной Африки [8] и Россию (NDV/chicken/Kaliningrad/184/2013). Второй субгенотип был выявлен в Пакистане [9], Индии [10], Израиле [11], Ливии [12], Турции, Грузии и Болгарии [13].

В Российской Федерации вирус данного генотипа впервые вызвал вспышку болезни на птицефабрике в Амурской области в 2006 г. и используется в настоящее время как штамм контрольного заражения [14]. В последующие годы НБ VII генотипа был причиной sporadических вспышек среди домашних птиц личных подсобных хозяйств (ЛПХ) в разных регионах страны. Вспышки НБ, вызванные вирусами субгенотипа VIIi, впервые были зарегистрированы в Республике Крым в конце 2015 г. и продолжались весь 2016 г., что на тот период времени являлось самой крупной и продолжительной эпизоотией болезни среди сельскохозяйственных птиц в России за несколько последних десятилетий (21 неблагополучный пункт). Это вполне оправдывает характеристику обеих групп как обладающих панзоотическим потенциалом [15]. Интересно отметить, что имеющие наибольшее сходство геномов с изолятами данных групп вирусы выявлялись либо не ранее середины 90-х гг. в странах Дальнего Востока и Юго-Восточной Азии, либо sporadически на островах Индонезии. Это позволяет предполагать существование в тропической зоне Юго-Восточной Азии постоянного резервуара вируса, в котором формируются и откуда периодически проникают вовне новые формы вирулентного AOAV-1.

В Российской Федерации в 2019 г. произошло резкое обострение ситуации по НБ с распространением вируса субгенотипа VII-L (по новой классификации – VII 1.1 [16]) по всей территории страны – от Приморского края до Курской области. В итоге зарегистрировано 17 неблагополучных пунктов, все – в ЛПХ, где содержалось невакцинированное поголовье.

Вирус субгенотипа VII-L является наиболее близким к группе изолятов из Ирана, получившей название подтипа VII-L [17]. Иранскими учеными были показаны высокое сходство изолятов между собой, их принадлежность генотипу VII, соответствие критериям выделения нового субгенотипа, а также филогенетическая близость к известным ранее и широко распространенным вирусам субгенотипа VIId. Эти же авторы [17] в дальнейшем значительно увеличили число изученных изолятов данной группы, показали их распространение практически по всем провинциям Ирана, а также отметили, что сходством с данной группой обладает частичная последовательность гена F изолята, выделенного в стране еще в 1999 г. F. Sabouri et al. [18], а также Molouki A. et al. [19] показали широкое распространение вирусов подтипа VII-L как в мелких крестьянских хозяйствах, так и на коммерческих птицефабриках. Появление новой сублинии ВНБ генотипа VII в указанном регионе показывает опасность подобных процессов и в других местах, поскольку вирусы субгенотипа VIId являются эндемичными во многих странах Евразии и Африки, а также были отмечены и в Южной Америке [20].

Зарегистрированных случаев НБ данного субгенотипа в промышленном птицеводстве России не было.

В большинстве стран, в том числе в Российской Федерации, вакцинация промышленного поголовья птиц против НБ является обязательной [1, 4, 21]. Сроки первичной иммунизации устанавливают исходя из уровня материнских антител. Как правило, через 14–21 сутки после первой вакцинации сыворотки крови исследуют в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Иммунизация считается успешной, если не менее чем у 80% привитой птицы титр антител будет не ниже $3 \log_2$ [22]. При использовании инактивированных вакцин титр антител должен быть не ниже $5 \log_2$ [23].

Недостаточный и неоднородный уровень специфических антител в условиях плановой вакцинации может быть связан с применением неадекватного в конкретной эпизоотической ситуации вакцинного штамма, недоведением дозы, технологическими пропусками, применением живых вакцин в период высокой концентрации материнских антител и прочими причинами.

Обострение эпизоотической ситуации в 2019 г. и распространение ВНБ генотипа VII по всей территории РФ послужили основанием для проведения экспериментов с заражением птиц актуальными вирусами указанного генотипа с целью оценки протективной активности живых и инактивированных вакцин из штамма «Ла-Сота» производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир, Россия) при разных схемах применения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вакцины. В испытаниях были использованы следующие вакцины против НБ (живые и инактивированные) производства ФГБУ «ВНИИЗЖ»:

– вакцина против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота» сухая живая, серия 140520 (дата выпуска 05.2020);

– вакцина ассоциированная против ньюкаслской болезни птиц, инфекционного бронхита кур и синдрома снижения яйценоскости-76 инактивированная эмульгированная, серия 010320 (дата выпуска 03.2020).

Вирусы. Для контрольного заражения в экспериментах были использованы три актуальных для Российской Федерации вируса НБ VII генотипа: NDV/chicken/Rus/Crimea/54/17, NDV/chicken/Rus/Krasnodar/9/19, NDV/chicken/Rus/Kaliningrad/184/13, которым в дальнейшем описании присвоили следующие условные обозначения: «Крым», «Краснодар» и «Калининград» соответственно.

Экспериментальные животные. В опытах были использованы цыплята яичного направления продуктивности в возрасте 2–3 недель, свободные от антител к вирусу НБ, полученные из благополучного по инфекционным болезням птицеводства.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014, принятым 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 по охране животных, используемых в научных целях.

Схема опыта. Было сформировано 4 опытных группы цыплят методом случайной выборки. Группа № 1 (30 гол.) привита однократно живой вакциной против НБ из штамма «Ла-Сота». Группа № 2 (30 гол.) вакцинирована двукратно живой вакциной против НБ из штамма «Ла-Сота», повторную иммунизацию при этом проводили через 28 дней после первой. Цыплят группы № 3 (30 гол.) прививали двукратно с интервалом в 28 дней живой вакциной против НБ и далее через 21 день – однократно инактивированной вакциной против НБ. Группа № 4 (90 гол.) служила в качестве отрицательного контроля и состояла из невакцинированных цыплят.

Используемые в опыте схемы вакцинации получили следующие условные обозначения: 1ЖВ – однократная иммунизация живой вакциной; 2ЖВ – двукратная иммунизация живой вакциной; 2ЖВ+1ИВ – двукратная иммунизация живой вакциной и однократная – инактивированной.

При этом живые вакцины применяли интраназальным методом в дозе $6,7 \lg \text{ ЭИД}_{50}$, что соответствует одной иммунизирующей дозе для вакцины против НБ из штамма «Ла-Сота» производства ФГБУ «ВНИИЗЖ», а инактивированную вводили внутримышечно в одной иммунизирующей дозе в объеме 0,5 мл.

Контроль иммуногенности вакцины. Иммуногенность вакцин оценивали по результатам контрольного заражения цыплят, а также по результатам серологических исследований.

Контрольное заражение цыплят проводили в соответствии с Руководством МЭБ по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных [24]. Цыплят из разных опытных групп подвергали заражению вирулентными вирусами НБ VII генотипа. Заражающие дозы вирулентных вирусов составили следующие значения: $5,9 \lg \text{ ЭИД}_{50}$ – для NDV/chicken/Rus/Kaliningrad/184/13; $6,6 \lg \text{ ЭИД}_{50}$ – для NDV/chicken/Rus/Crimea/54/17; $6,9 \lg \text{ ЭИД}_{50}$ – для NDV/chicken/Rus/Krasnodar/9/19. Цыплят заражали внутримышечно в объеме 0,5 мл

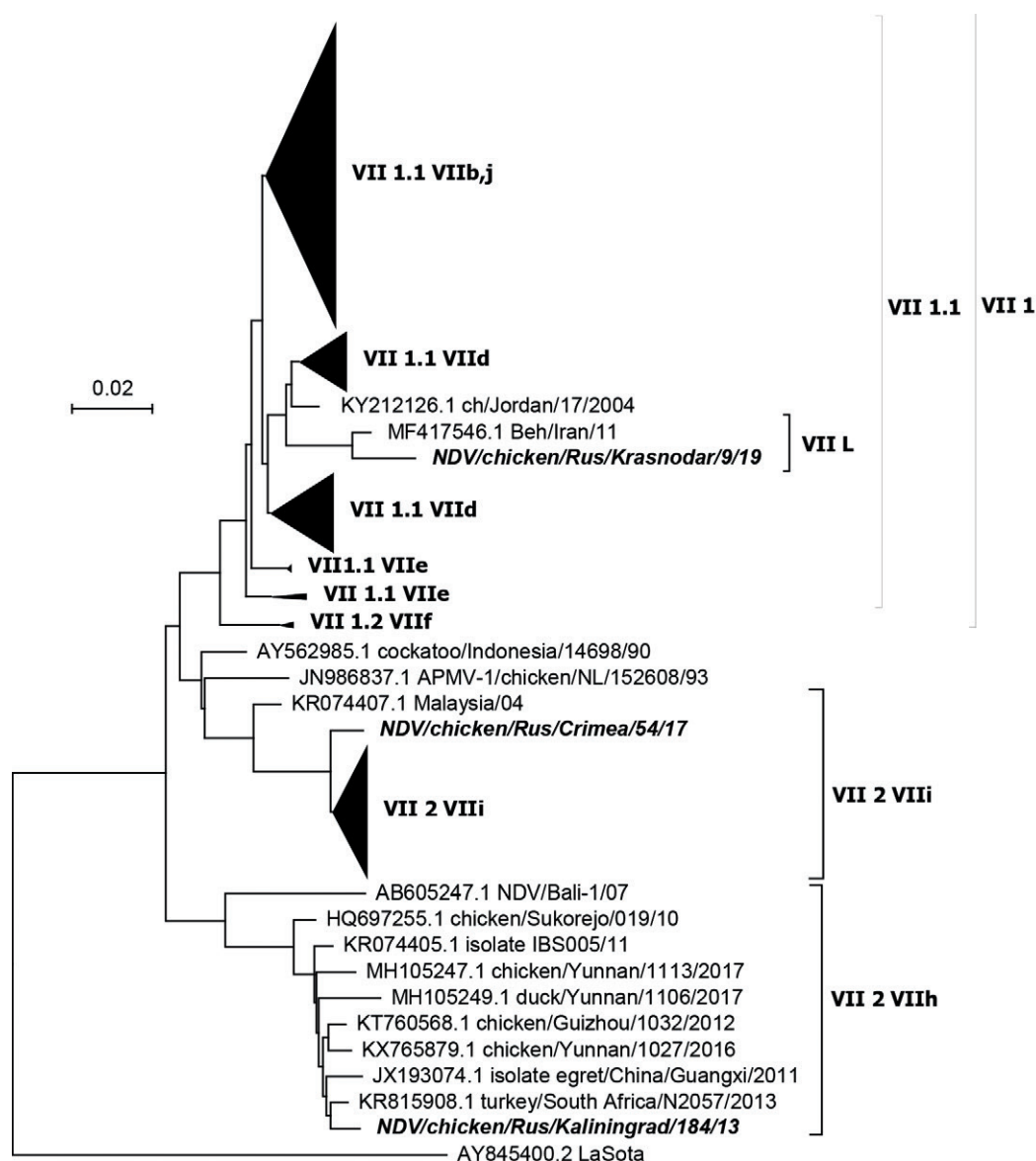


Рис. 1. Филогенетическое положение изолятов генотипа VII, вызвавших в России вспышки НБ в последние годы. Дендрограмма получена для полных последовательностей ОРС гена F 3 российских и 304 ранее опубликованных штаммов и изолятов с помощью программы NJ пакета MEGA 6.0. Российские изоляты выделены жирным шрифтом и курсивом. Справа приведены названия филогенетических групп по D. G. Diel et al. [25] (римские цифры и латинские буквы) и по K. M. Dimitrov et al. [16] (римские и арабские цифры). Филогенетические группы, не содержащие изучаемых изолятов, для удобства показаны в свернутом виде

Fig. 1. Phylogenetic position of genotype VII isolates that have caused ND outbreaks in Russia in recent years. The dendrogram for complete F gene ORF sequences of 3 Russian and 304 previously published strains and isolates was obtained using the NJ program, MEGA 6.0 package. Russian isolates are shown in bold and italics. On the right are the names of phylogenetic groups according to D. G. Diel et al. [25] (Roman numerals and Latin letters) and K. M. Dimitrov et al. [16] (Roman and Arabic numerals). Phylogenetic groups that do not contain the studied isolates are shown in a contracted form for convenience

и вели наблюдение за ними в течение 7–8 дней. При этом каждый раз формировали методом случайной выборки по 6 опытных групп цыплят (по 10 гол.), которых подвергали заражению:

группа № 1 – иммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Crimea/54/17;

группа № 2 – иммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Krasnodar/9/19;

группа № 3 – иммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Kaliningrad/184/13;

группа № 4 – неиммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Crimea/54/17;

группа № 5 – неиммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Krasnodar/9/19;

группа № 6 – неиммунные цыплята, зараженные вирусом NDV/chicken/Rus/Kaliningrad/184/13.

Контрольное заражение проводили через 21–28 дней после каждой вакцинации.

Для серологических исследований от цыплят разных опытных групп отбирали кровь, получали

Таблица 1

Результаты контрольного заражения цыплят, иммунизированных с применением различных схем вакцинации

Table 1

Results of the challenge in chickens immunized following different vaccination schedules

Схема вакцинации	Вирулентный штамм вируса НБ			Эффективность вакцинации, % $M \pm m$ ($n = 3$)
	«Крым»	«Краснодар»	«Калининград»	
1ЖВ	2/10*	6/10	0/10	73 ± 18
2ЖВ	0/10	0/10	0/10	100
2ЖВ+1ИВ	0/10	0/10	0/10	100
контроль	10/10 ($n = 3$)	10/10 ($n = 3$)	10/10 ($n = 3$)	0

* Отношение павших к общему количеству зараженных цыплят (The ratio of the dead to the total number of infected chickens).

сыворотки и исследовали в РТГА с помощью набора для выявления антител к вирусу ньюкаслской болезни в реакции торможения гемагглютинации производства ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Кратность обора проб была следующей: до вакцинации и перед каждым контрольным заражением, а также через 7–8 дней после заражения от выживших цыплят.

Нуклеотидные последовательности генов вирулентных вирусов НБ, используемых для контрольного заражения. На рисунке 1 представлены нуклеотидные последовательности изолятов и штаммов ВНБ, охарактеризованные в ФГБУ «ВНИИЗЖ» или опубликованные в базах данных GenBank электронного ресурса NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/) и GISAID EpiFlu (<https://www.gisaid.org/>).

Анализ нуклеотидных и соответствующих им аминокислотных последовательностей проводили с помощью программы BioEdit, версия 7.0.5.3. Выравнивание последовательностей осуществляли с помощью программы множественного выравнивания ClustalW. Построение филогенетического дерева проводили с помощью алгоритма NJ в реализации пакета MEGA, версия 6.0.

Анализ результатов исследований. Иммуногенность вакцин и эффективность использованных схем иммунизации оценивали по показателю «эффективность вакцинации», а также по результатам серологических исследований.

Расчет показателя «эффективность вакцинации» (Э) проводили по формуле:

$$\text{Э} = (n - n_i) / n \times 100\%,$$

где n_i – число павших цыплят в группе, n – общее число цыплят в группе.

Для характеристики патогенного действия вирулентных вирусов НБ использовали показатель летальности, рассчитанный для группы однократно вакцинированных живой вакциной цыплят. Данный показатель представляет собой отношение числа павших от данной болезни к числу восприимчивых животных, выраженное в процентах.

Расчет показателя летальности (Л) вычисляли по формуле:

$$\text{Л} = n_i / n \times 100\%,$$

где n_i – число павших цыплят в группе, n – общее число цыплят в группе.

При статистической обработке вычисляли средние значения показателей эффективности вакцинации, летальности, титров антител, стандартные ошибки средних и проводили сравнение для достоверной вероятности 95%, используя t -критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Иммуногенность вакцин и применяемые в эксперименте схемы вакцинации против НБ оценивали по устойчивости к контрольному заражению вирулентными вирусами НБ, а также по результатам серологических исследований.

В таблице 1 представлены обобщенные результаты устойчивости вакцинированных цыплят к контрольному заражению вирулентными вирусами НБ, из которой следует, что эффективность однократной вакцинации в группах варьировалась от 40 до 100% и в среднем составила 73%. Наибольшая эффективность однократной вакцинации была продемонстрирована в отношении вируса «Калининград» (выжило 10 из 10 гол. цыплят), а наименьшая – в отношении вируса «Краснодар» (выжило 4 из 10 гол. цыплят).

Также из приведенных в таблице 1 данных следует, что эффективность вакцинации варьировала от 73 до 100% в зависимости от используемой схемы. Наименьшая эффективность была получена после однократного применения живой вакцины и максимальная – после двукратного введения живой вакцины и дополнительно инактивированной.

При этом во всех невакцинированных контрольных группах при проведении трех этапов испытаний наблюдали 100%-ю гибель цыплят в интервале времени от 3 до 7 суток после заражения.

На рисунке 2 в графическом виде представлены результаты определения летальности цыплят в группе 1ЖВ после заражения вирусами НБ генотипа VII. Судя по графику, а также на основании уравнения регрессии и коэффициента детерминации $R = 0,84$, или 84%, установлена высокая степень зависимости летальности от заражающей дозы.

На рисунке 3 в графическом виде представлено распределение титров антител к вирусу НБ в группах цыплят соответственно схемами вакцинации. Из графика следует, что схема вакцинации 2ЖВ+1ИВ приводила к формированию высоких титров антител со средним значением $11,9 \log_2$. При других схемах, когда птицу

вакцинировали живой вакциной однократно и двукратно, средние значения титров антител составили 5,2 и 4,8 $\log_2$ соответственно.

В таблице 2 представлены результаты серологических исследований по выявлению титров антител в РТГА к вирусу НБ в крови цыплят после вакцинации с применением различных схем, а также после контрольного заражения.

Из данных таблицы 2 следует, что титры антител после однократной ($5,2 \pm 0,3 \log_2$) и двукратной ($4,8 \pm 0,2 \log_2$) прививки были практически одинаковыми, т. к. не имели статистических различий ($P > 0,05$). Вакцинация цыплят инактивированной вакциной привела к значительному (статистически значимому) приросту титров антител ($P < 0,001$).

После контрольного заражения титры антител у цыплят в группах 1ЖВ и 2ЖВ значительно возросли и превышали первоначальное значение в 48 и 119 раз соответственно, а в группе 2ЖВ+1ИВ были сравнимы с титрами антител до заражения – $11,9 \log_2$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Однократная прививка цыплят живой вакциной производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» вызвала образование высоких титров гуморальных антител, которые были сравнимы с титрами антител после двукратной вакцинации. Однако эффективность однократной вакцинации была наименьшей и составляла 73%, тогда как после двукратной вакцинации живой вакциной и дополнительно инактивированной эффективность была наибольшей и составила 100% по отношению к вирулентным вирусам НБ генотипа VII.

Необходимо отметить, что патогенность вирусов генотипа VII зависела от заражающей дозы, причем это было характерно для цыплят, которых вакцинировали однократно живой вакциной. В дальнейшем при характеристике эффективности схем вакцинации 2ЖВ и 2ЖВ+1ИВ такая зависимость нивелировалась. Также необходимо отметить, что в природе такая концентрация вируса (около $5,9 \lg \text{ЭИД}_{50}$ или $\sim 1\,000\,000$ вирусных частиц) при заражении практически не встречается, поэтому с большой долей вероятности можно предположить, что однократная вакцинация живой вакциной из штамма «Ла-Сота» защитит птицу от заражения вирулентным вирусом НБ VII генотипа.

По-видимому, двукратная иммунизация живой и дополнительно инактивированной вакциной

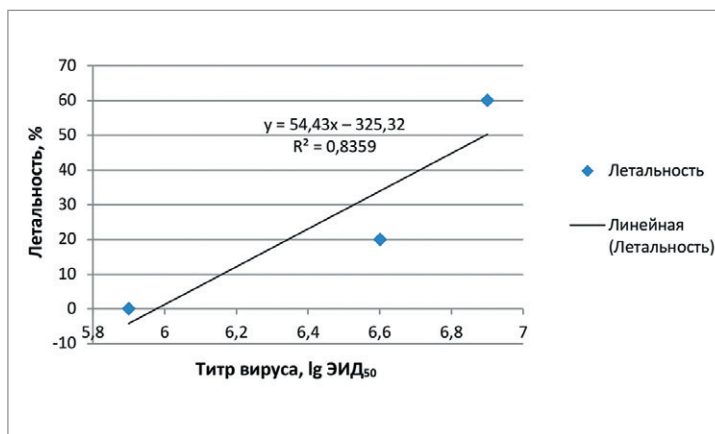


Рис. 2. Влияние заражающей дозы на показатель летальности однократно вакцинированных цыплят

Fig. 2. Relationship between the infectious dose and the mortality rate in single-dose vaccinated chickens

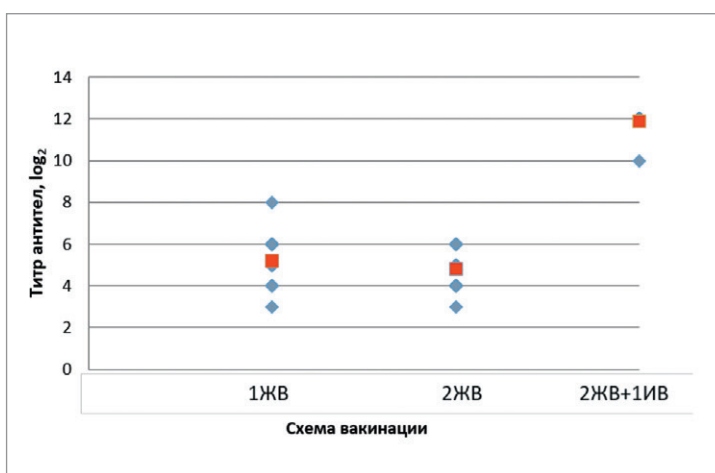


Рис. 3. Распределение титров антител по группам, соответственно примененным схемам вакцинации. Красными маркерами выделены средние значения соответствующих вариационных рядов

Fig. 3. Distribution of antibody titers by groups, according to the vaccination schedules used. The red markers indicate the average values of the corresponding set of variate values

Таблица 2

Серологический ответ цыплят на иммунизацию с использованием различных схем вакцинации против НБ

Table 2

Serological response in chickens to vaccination following different ND vaccination schedules

Схема вакцинации	Титр антител ($\log_2$) на разных сроках взятия крови		
	0 д/в	21–28 п/в	7–8 п/кз
1ЖВ	$3,2 \pm 0,6$	$5,2 \pm 0,3$	$10,8 \pm 0,3$
2ЖВ		$4,8 \pm 0,2$	$11,7 \pm 0,1$
2ЖВ+1ИВ		$11,9 \pm 0,1$	$11,9 \pm 0,1$

д/в – дней до вакцинации (days before vaccination), п/в – дней после вакцинации (days post vaccination), п/кз – дней после контрольного заражения (days post challenge).

вызывает формирование более напряженного и специфического иммунитета, представленного главным образом «поздним» иммуноглобулином G, который более эффективен в отношении вирулентных вирусов НБ. Тем не менее иммунизация птицы живыми вакцинами полностью не предотвращала репродукцию вирулентного вируса, о чем свидетельствует повышение титров гуморальных антител в 50–100 раз через 7–8 дней после заражения.

Так называемая полная схема вакцинации, с использованием живых и инаktivированных вакцин, вызывала образование высоких титров гуморальных антител, предотвращала репродукцию вирулентного вируса и вызывала 100%-ю протективную защиту от заражения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, было установлено, что вакцины против НБ эффективны для профилактики ньюкаслской болезни, вызываемой вирулентным вирусом VII генотипа, при использовании в определенной схеме вакцинации. Так, схема вакцинации, предусматривающая двукратное использование живых вакцин, предотвращала гибель птиц и клиническое проявление болезни, однако не препятствовала репликации вируса. В то время как схема вакцинации с использованием живых и инаktivированных вакцин предотвращала гибель, развитие клинических признаков болезни и репликацию вирулентного вируса.

Следовательно, вакцины против НБ производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» обладают высокой иммуногенной активностью для профилактики заболевания, вызываемого вирусом НБ VII генотипа.

Полученные данные свидетельствуют о том, что вирулентность циркулирующего в настоящее время возбудителя НБ заметно возросла по сравнению с вирусами, выделенными в предыдущие годы, и он способен преодолевать поствакцинальный иммунитет, создаваемый живыми вакцинами. Поэтому применение актуальных отечественных живых и инаktivированных вакцин, прежде всего на основе штамма «Ла-Сота», с последующим контролем напряженности иммунитета и проведением ревакцинаций по показаниям будет главным инструментом в борьбе с заболеванием.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

(п. п. 1–13, 15–20, 24, 25 см. REFERENCES)

14. 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: 28–31. eLIBRARY ID: 23016019.
21. Инструкция о мероприятиях по борьбе с ньюкаслской болезнью (псевдочумой) птиц: утв. ГУВ МСХ СССР 09.06.1976 (с изменениями и дополнениями от 28.08.1978). Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/560851920>.
22. Инструкция по ветеринарному применению вакцины против ньюкаслской болезни из штамма «Ла-Сота» сухой живой: утв. Россельхознадзором 30.03.2020. Режим доступа: http://www.arriah.ru/sites/default/files/instrukciya_la_sota.pdf.
23. Инструкция по ветеринарному применению вакцины ассоциированной против ньюкаслской болезни, инфекционного бронхита кур и синдрома снижения яйценоскости-76 инаktivированной эмульгированной: утв. Россельхознадзором 01.06.2018. Режим доступа: http://www.arriah.ru/sites/default/files/instrukciya_ssyabknbn_ot_01.06.18.pdf.

REFERENCES

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

2. OIE. World Animal Health Information Database (WAHIS) Interface. Available at: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Countryinformation/Reporting; https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/Diseasetimeline.
3. OIE. Weekly Disease Information. Available at: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/WI.
4. Dimitrov K. M., Afonso C. L., Yu Q., Miller P. J. Newcastle disease vaccines – A solved problem or a continuous challenge? *Vet. Microbiol.* 2017; 206: 126–136. DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.12.019.
5. Xiao S., Nayak B., Samuel A., Paldurai A., Kanabagattebasavarajappa M., Prajitno T. Y., et al. Generation by reverse genetics of an effective, stable, live-attenuated Newcastle disease virus vaccine based on a currently circulating, highly virulent Indonesian strain. *PLoS One*. 2012; 7 (12): e52751. DOI: 10.1371/journal.pone.0052751.
6. Habib M., Yaqub T., Nazir J., Shehzad W., Aziz-ul-Rahman, So-hail T., et al. Genomic and biological characterization of Newcastle disease viruses isolated from migratory mallards (*Anas platyrhynchos*). *Arch. Virol.* 2018; 163 (8): 2179–2188. DOI: 10.1007/s00705-018-3840-8.
7. Liu Y., Sun C., Chi M., Wen H., Zhao L., Song Y., et al. Genetic characterization and phylogenetic analysis of Newcastle disease virus from China. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 75: 103958. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.103958.
8. Abolnik C. History of Newcastle disease in South Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2017; 84 (1): e1–e7. DOI: 10.4102/ojvr.v84i1.1306.
9. Wajid A., Wasim M., Rehmani S. F., Bibi T., Ahmed N., Afonso C. L. Complete genome sequence of a recent panzootic virulent Newcastle disease virus from Pakistan. *Genome Announc.* 2015; 3 (3): e00658-15. DOI: 10.1128/genomeA.00658-15.
10. Desingu P. A., Dhama K., Malik Y. S., Singh R. K. May newly defined genotypes XVII and XVIII of Newcastle disease virus in poultry from West and Central Africa be considered a single genotype (XVII)? *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54 (9): 2399. DOI: 10.1128/JCM.00667-16.
11. Pandarangga P., Brown C. C., Miller P. J., Haddas R., Rehmani S. F., Afonso C. L., Susta L. Pathogenesis of new strains of Newcastle disease virus from Israel and Pakistan. *Vet. Pathol.* 2016; 53 (4): 792–796. DOI: 10.1177/0300985815622972.
12. Kammon A., Heidari A., Dayhum A., Eldaghayes I., Sharif M., Monne I., et al. Characterization of avian influenza and Newcastle disease viruses from poultry in Libya. *Avian Dis.* 2015; 59 (3): 422–430. DOI: 10.1637/11068-032215-ResNote.1.
13. Fuller C., Löndt B., Dimitrov K. M., Lewis N., van Boheemen S., Fouchier R., et al. An epizootiological report of the re-emergence and spread of a lineage of virulent Newcastle disease virus into Eastern Europe. *Trans-bound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (3): 1001–1007. DOI: 10.1111/tbed.12455.
14. 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)
15. Miller P. J., Haddas R., Simanov L., Lublin A., Rehmani S. F., Wajid A., et al. Identification of new sub-genotypes of virulent Newcastle disease virus with potential panzootic features. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 29: 216–229. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.10.032.
16. Dimitrov K. M., Abolnik C., Afonso C. L., Albina E., Bahl J., Berg M., et al. Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 74: 103917. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.103917.
17. Esmaelzad M., Mayahi V., Pashaei M., Goudarzi H. Identification of novel Newcastle disease virus sub-genotype VII-(j) based on the fusion protein. *Arch. Virol.* 2017; 162 (4): 971–978. DOI: 10.1007/s00705-016-3189-9.
18. Sabouri F., Vasfi Marandi M., Bashashati M. Characterization of a novel VIII sub-genotype of Newcastle disease virus circulating in Iran. *Avian Pathol.* 2018; 47 (1): 90–99. DOI: 10.1080/03079457.2017.1376735.
19. Molouki A., Mehrabadi M. H. F., Bashashati M., Akhijahani M. M., Lim S. H. E., Hajloo S. A. NDV subgenotype VIII(L) is currently circulating in commercial broiler farms of Iran, 2017–2018. *Trop. Anim. Health Prod.* 2019; 51 (5): 1247–1252. DOI: 10.1007/s11250-019-01817-1.
20. 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.
21. Instructions for Newcastle disease control [Instrukciya o meropriyatiyah po bor'be s n'yukaslskoj bolezn'yu (psevdochumoj) ptic]: Approved by the Chief Veterinary Department of the Ministry of Agriculture of the USSR on 09.06.1976 (amended on 28.08.1978). Available at: <http://docs.cntd.ru/document/560851920>. (in Russian)
22. Instructions for the veterinary use of Live dry vaccine against Newcastle disease from “La Sota” strain [Instrukciya po veterinarnomu primeniyu vakciny protiv n'yukaslskoj bolezn'i iz shtamma «La-Sota» suhoj]

zhivoyi]: Approved by the Rosselkhoz nadzor 30.03.2020. Available at: http://www.arriah.ru/sites/default/files/instrukciya_la_sota.pdf. (in Russian)

23. Instructions for veterinary use of the combined inactivated emulsion vaccine against Newcastle disease, avian infectious bronchitis and egg drop syndrome-76 [Instrukciya po veterinarnomu primeneniyu vaktsiny asociirovannoy protiv n'yukasl'skoy bolezni, infekcionnogo bronhita kur i sindroma snizheniya jajcenoskosti-76 inaktivirovannoy emul'girovannoy]: Approved by the Rosselkhoz nadzor 01.06.2018. Available at: http://www.arriah.ru/sites/default/files/instrukciya_ssyabknb_ot_01.06.18.pdf. (in Russian)

24. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). In: *OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2018;

Chap. 3.3.14: 964–983. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf.

25. Diel D. G., da Silva L. H., Liu H., Wang Z., Miller P. J., Afonso C. L. Genetic diversity of avian paramyxovirus type 1: proposal for a unified nomenclature and classification system of Newcastle disease virus genotypes. *Infect. Genet. Evol.* 2012; 12 (8): 1770–1779. DOI: 10.1016/j.mee-gid.2012.07.012.

Поступила 15.01.2021

Принята в печать 03.03.2021

Received on 15.01.2021

Approved for publication on 03.03.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Фролов Сергей Владимирович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Мороз Наталья Владимировна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Ирза Виктор Николаевич, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Sergey V. Frolov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Natalya V. Moroz, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

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

Эпизоотическая ситуация по цестодовой инвазии домашних северных оленей в оленеводческих хозяйствах Мурманской области

Р. А. Почепко¹, А. П. Карташова², А. Лавикайнен³, С. Малкамьяки⁴

^{1,2} Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Мурманская государственная сельскохозяйственная опытная станция» (ФГБНУ Мурманская ГСХОС), пос. Молочный, Мурманская обл., Россия

^{3,4} Хельсинкский университет, Хельсинки, Финляндия

¹ ORCID 0000-0001-6684-8192, AuthorID 646194, e-mail: research-station@yandex.ru

² ORCID 0000-0003-3144-2816, AuthorID 560003, Web of Science ResearcherID M-5495-2014, email: research-station@yandex.ru

³ e-mail: antti.lavikainen@helsinki.fi

⁴ ORCID 0000-0001-6707-1581, e-mail: sanna.malkamaki@helsinki.fi

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты анализа эпизоотической ситуации по цестодам домашних северных оленей в хозяйствах Мурманской области. Исследования проводили в период с 2018 по 2019 г. во время планового убоя северных оленей на убойных пунктах СХПК «Тундра» и СХПК ОПХ МНС «Оленевод», расположенных в поселениях Ловозеро, Краснощелье, Сосновка. Всего было обследовано 4048 туш домашних северных оленей, из них 2812 – в Ловозеро, 396 – в Сосновке, 840 – в Краснощелье. При ветеринарно-санитарной экспертизе проводили внешний осмотр паренхиматозных органов на предмет наличия на них цестодовых пузырей. При их обнаружении производили отбор проб и готовили макропрепараты по общепринятым в паразитологии методикам. Из числа обследованных туш было отобрано 56 проб внутренних органов оленей с подозрением на наличие цестод, в 25 из них обнаружены гельминты, в остальных образцах паразиты не выделены. Видовую принадлежность гельминтов определяли на кафедре ветеринарно-биологических наук факультета ветеринарной медицины Хельсинкского университета. В результате проведенных исследований из гельминтозных заболеваний были выявлены эхинококкоз (*Echinococcus canadensis*) и цистицеркоз (*Taenia hydatigena*). Преимущественно была поражена печень, где в пузырчатой форме паразитируют личинки возбудителя. Установлено, что инвазированность домашних северных оленей возбудителями цистицеркоза в СХПК «Тундра» составила 0,5%, эхинококкоза – 0,04%, в СХПК ОПХ МНС «Оленевод» цистицеркоз диагностировали в 0,81% случаев, эхинококки не выделены. В целом по оленеводческим хозяйствам цестодами поражено 0,62% оленей. Мероприятия по предупреждению распространения гельминтозов среди домашних и сельскохозяйственных животных проводятся достаточно эффективно.

Ключевые слова: эпизоотическая ситуация, цестодоз, гельминтоз, северный олень, *Taenia hydatigena*, *Echinococcus canadensis*.

Благодарность: Выражаем глубокую благодарность сотрудникам ГОВУ «Мурманская областная станция по борьбе с болезнями животных» и его руководителю Н. А. Костюк, а также председателю Комитета по ветеринарии Мурманской области А. Е. Касаткину за оказание всесторонней помощи при проведении исследований.

Для цитирования: Почепко Р. А., Карташова А. П., Лавикайнен А., Малкамьяки С. Эпизоотическая ситуация по цестодовой инвазии домашних северных оленей в оленеводческих хозяйствах Мурманской области. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 52–58. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-52-58.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Карташова Анастасия Петровна, кандидат сельскохозяйственных наук, временно исполняющий обязанности директора ФГБНУ Мурманская ГСХОС, 184365, Россия, Мурманская обл., Колыский р-н, п. Молочный, ул. Совхозная, д. 1, e-mail: research-station@yandex.ru.

UDC 636.294:616.995.121:576.895.121.56

Epidemic situation of cestodiasis in domestic reindeer on reindeer farms in the Murmansk Oblast

R. A. Pochepko¹, A. P. Kartashova², A. Lavikainen³, S. Malkamäki⁴

^{1,2} FSBSI "Murmansk State Agricultural Experimental Station", Molochny, Murmansk Region, Russia

^{3,4} University of Helsinki, Helsinki, Finland

¹ ORCID 0000-0001-6684-8192, AuthorID 646194, e-mail: research-station@yandex.ru

² ORCID 0000-0003-3144-2816, AuthorID 560003, Web of Science ResearcherID M-5495-2014, email: research-station@yandex.ru

³ e-mail: antti.lavikainen@helsinki.fi

⁴ ORCID 0000-0001-6707-1581, e-mail: sanna.malkamaki@helsinki.fi

SUMMARY

The paper presents the results of the cestodiasis epidemic situation in domestic reindeer in the farms of the Murmansk Oblast. The studies were performed in 2018–2019 during the routine slaughter of reindeer at slaughter houses APC "Tundra" and APC HFE SEN "Olenevod" located in settlements Lovozero, Krasnoschelye, and Sosnovka. Totally 4,048 carcasses of domestic reindeer were tested, 2,812 out of them – in Lovozero, 396 – in Sosnovka, and 840 – in Krasnoschelye. During the meat inspection the parenchymal organs were examined for cestode cysts. When detected they were sampled and gross specimens were prepared using standard parasitological methods. 56 samples of internal organs of deer suspected in tapeworm infestation were collected from the inspected carcasses, in 25 of them tapeworms were detected and in the rest of the samples parasites were not detected. The tapeworm species were determined at the Department of Veterinary Biosciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki. The test performed revealed echinococcosis (*Echinococcus canadensis*) and cysticercosis (*Taenia hydatigena*). Most lesions were detected in liver where the agent's larvae cysts are observed. It was established that the level of domestic reindeer infestation with the agents of cysticercosis in APC "Tundra" was 0.5%, echinococcosis – 0.04%, in APC HFE SEN "Olenevod" cysticercosis was diagnosed in 0.81% cases, echinococcosis was not detected. On the whole 0.62% of reindeer on reindeer farms were infested with cestodes. Measures taken for prevention of helminth infestation in domestic and farm animals bear good results.

Keywords: Epidemic situation, cestodiasis, helminth infestation, reindeer, *Taenia hydatigena*, *Echinococcus canadensis*.

Acknowledgements: We would like to express our deep gratitude to the staff of the Murmansk Regional Station for Animal Disease Control and its head N. A. Kostyuk, as well as the Chairman of the Veterinary Committee of the Murmansk Oblast A. E. Kasatkin for providing comprehensive assistance in conducting the research.

For citation: Pochepko R. A., Kartashova A. P., Lavikainen A., Malkamäki S. Epidemic situation of cestodiasis in domestic reindeer on reindeer farms in Murmansk Oblast. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 52–58. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-52-58.

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

For correspondence: Anastasia P. Kartashova, Candidate of Agricultural Science, Interim Director, FSBSI "Murmansk State Agricultural Experimental Station", 184365, Russia, Murmansk region, Kola district, Molochny, Sovkhoznyaya str., 1, e-mail: research-station@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Среди наиболее часто регистрируемых в оленеводческих стадах болезней, которые наносят существенный экономический ущерб северному оленеводству, следует выделить некробактериоз, эдемагеноз, цефеномиоз и гельминтозы. Они снижают хозяйственно полезные качества животных и нередко вызывают их гибель [1–3].

Особое место среди заболеваний домашних северных оленей занимают гельминтозы. Они снижают привесы при нагуле животных, часто вызывают их истощение, а также ухудшают качество мяса и кожно-меховой продукции [4]. Олени, зараженные гельминтами, в 5-месячном возрасте весят на 6,2 кг меньше [5], чем здоровые, а взрослые – на 16,4 кг [6], разница в выходе мяса в среднем составляет 3,8 и 10,9 кг соответственно. Из-за гельминтозов во время осеннего убоя оленей выбраковывается 0,3–2% туш, 25–40% печени, 10–20% сердец и легких, что составляет в отдельных северных регионах прямой экономический ущерб, измеряемый сотнями тонн. Глистные инвазии не только снижают продуктивность оленей, но и повышают восприимчивость их к другим болезням, например некробактериозу, бронхопневмонии [7, 8]. Известно, что северного оленя могут заражать 74 вида гельминтов, 35 из которых встречаются только у данного животного и являются для него специфичными [9].

Из гельминтозных заболеваний в оленеводстве распространены эхинококкоз и цистицеркоз. Поражаются при этом преимущественно печень и легкие, где в пузырчатой форме паразитируют личинки возбудителей. В ленточной стадии гельминты паразитируют в кишеч-

нике плотоядных (собак, волков, песцов) и человека. В этой стадии паразиты во внешней среде сохраняются до 18 месяцев и попадают в организм оленя с кормом. Эффективных мер борьбы с пузырчатой формой гельминтов не разработано. Пораженные паренхиматозные органы и ткани выбраковываются и уничтожаются. Меры борьбы направлены на дегельминтизацию собак и уничтожение фекалий [10].

Соблюдение современных требований ветеринарно-санитарных правил при работе в отрасли животноводства позволило значительно улучшить эпидемиологическую ситуацию в стране. Однако остаются регионы с высоким уровнем заболеваемости животных цистицеркозом и эхинококкозом.

В Якутии зараженность северных оленей *Taenia parenchimatosa* достигает 84,6%, а *Echinococcus granulosus* – до 17,2% [3, 10]. По наблюдениям В. А. Большакова и И. И. Григорьева [5, 7], в горно-таежной зоне Якутии цистицеркозом заражается 23,6–84,6% молодняка в возрасте 6–8 месяцев и 7,3–46,7% взрослых оленей, эхинококкозом – до 7,5% особей.

На Западном Таймыре заболеваемость цистицеркозом северных оленей составляет 61,5% [11].

В Кабардино-Балкарской Республике пораженность диких копытных (серна, олень, косуля) эхинококкозом зарегистрирована на уровне 18,5–50%, цистицеркозом – 7,4–11,8% [12].

В условиях Центрального Черноземья (Воронежский заповедник) в 70–80-х гг. прошлого века наблюдалась пораженность эхинококкозом диких копытных менее 1%, но к 2017 г. среди лосей выросла до 10%. Это было связано с увеличением случаев заражения эхинококкозом бродячих собак. Среднемноголетняя

зараженность цистицеркозом (*Taenia hydatigena*) составила 19,9–86,2% у разных копытных (олень, косуля, лось) [13, 14].

Таким образом, в отдельных регионах страны подерживаются очаги возбудителей гельминтозов сельскохозяйственных животных. При этом сохраняется природная цепочка передачи заболеваний между дефинитивными (волк, собака) и промежуточными (олень, лось, косуля) хозяевами.

Своевременное выявление больных эхинококкозом и цистицеркозом сельскохозяйственных животных и их защита от возбудителей связаны непосредственно со здоровьем человека. Так, в 2019 г. на территории Российской Федерации был выявлен 451 случай заболевания людей эхинококкозом (0,31 на 100 тыс. населения) и 65 случаев альвеококкоза (0,04 на 100 тыс. населения). Тениаринхоз (возбудитель – *Taenia saginata*) и тениоз (возбудитель – *Taenia solium*) составляют до 0,31% всех случаев гельминтозов людей [15].

Анализ многолетней заболеваемости населения эхинококкозом в субъектах Российской Федерации показал, что уровень заболеваемости этим гельминтозом превышает среднероссийские показатели в Ямало-Ненецком (в 7,3 раза), Чукотском (в 4,8 раза), Ханты-Мансийском (в 1,6 раза) автономных округах, Ставропольском (в 1,8 раза), Пермском (в 1,1 раза), Алтайском (в 1,6 раза) краях, Кабардино-Балкарской (в 2,0 раза) и Карачаево-Черкесской (в 9,7 раза) республиках, республиках Башкортостан (в 3,6 раза), Алтай (в 3,5 раза), Саха (Якутия) (в 2,8 раза), Калмыкия (в 2,5 раза), Дагестан (в 1,8 раза), Оренбургской (в 6,9 раза), Саратовской (в 4,5 раза), Астраханской (в 4,1 раза), Курганской (в 2,4 раза), Кировской (в 1,1 раза) областях [16].

Главными причинами распространения заболеваний остаются нарушения правил убоя сельскохозяйственных животных, неэффективность дегельминтизации собак и дезинфекции объектов окружающей среды. Основными пострадавшими остаются работники, непосредственно контактирующие с сельскохозяйственными животными, собаками, охотники, работники убойных пунктов. Кроме того, сохраняются риски заражения населения при употреблении блюд из сырого мяса или контакте с каловыми массами инфицированного гельминтами животного через необработанные ягоды, листья и т. д. Например, в феврале 2019 г. в Ульяновской области наблюдалась вспышка альвеококкоза среди учащихся Суворовского училища (26 пострадавших).

Цель настоящего исследования – изучить распространение и степень поражения цестодами домашних северных оленей в оленеводческих хозяйствах Мурманской области, а также определить степень поражения эхинококкозом дефинитивных хозяев (домашних и диких плотоядных животных).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научные исследования проводились в лаборатории оленеводства ФГБНУ Мурманская ГСХОС совместно с Хельсинкским университетом и Агентством безопасности продовольствия Evira (Финляндия). Изучали морфологическое и генетическое разнообразие цестод в мясе и внутренних органах северного оленя в оленеводческих хозяйствах Мурманской области.

Исследования проводили в 2018–2019 гг. во время планового убоя северных оленей на убойных пунктах, расположенных в с. Ловозеро, Краснощелье, Сосновка.

Всего было обследовано 4048 туш домашних северных оленей: Ловозеро – 2812, Сосновка – 396, Краснощелье – 840. При ветеринарно-санитарной экспертизе проводили внешний осмотр паренхиматозных органов на предмет наличия на них цестодовых пузырей, при обнаружении которых производили отбор проб, готовили из них макропрепараты по общепринятым в паразитологии методикам. Видовую принадлежность гельминтов определяли на кафедре ветеринарно-биологических наук факультета ветеринарной медицины Хельсинкского университета (Финляндия).

Взятие проб фекалий у бродячих и оленегонных собак проводили во время планового убоя северных оленей на территории убойных пунктов СХПК «Тундра» и СХПК ОПХ МНС «Оленевод», а также собирали с пастбищ и в местах стоянок. Всего было отобрано 83 пробы фекалий собак. У одной росомы проведено полное гельминтологическое вскрытие отдельных органов по методу академика К. И. Скрябина (1928).

Отобранные пробы фекалий помещали в пластмассовый контейнер и в течение рабочего дня доставляли в ГОБВУ «Мурманская облветлаборатория» для проведения микроскопических исследований методами Фюллеборна, Котельникова – Хренова.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При ветеринарно-санитарной экспертизе проводили осмотр паренхиматозных органов и отбор проб с цестодовыми пузырями на поверхности внутренних органов северных оленей. Всего было отобрано 56 проб пузырей, 99% которых обнаружены в тканях печени. Только 1 образец был найден в легком. Результаты представлены в таблице 1.

В СХПК ОПХ МНС «Оленевод», на убойном пункте в с. Краснощелье, было обнаружено 25 образцов цист. В десяти образцах были выявлены сколексы *Taenia hydatigena*, указывающие на заболеваемость цистицеркозом. На убойном пункте в с. Сосновка было найдено 11 образцов цист. Цестод не выявлено.

В СХПК «Тундра», на убойном пункте в с. Ловозеро, в стадах № 1, 2, 8 было отобрано 20 образцов цист. В одном образце обнаружили *Echinococcus canadensis*, вызывающих эхинококкоз, а в четырнадцати – сколексы *Taenia hydatigena*, являющейся причиной цистицеркоза.

Оценивая результаты исследований, представленные в таблице 1, можно отметить, что *Taenia hydatigena* в основном была поражена печень, а эхинококкоз легкого диагностирован только в одном случае.

До 50% отобранных образцов не являлись цистами гельминтов. Это были уплотнения, шрамы, кисты тканей печени. Скорее всего, данные повреждения тканей свидетельствуют о более ранних поражениях печени, в том числе гельминтами разных видов.

Помимо этого, на поверхности ряда цист были обнаружены микроскопические личинки *Setaria tundra*. Можно предположить, что травмы на поверхности печени оленя, представленные в виде разного рода уплотнений, шрамов, вызваны миграцией личинок *Setaria tundra* из кровотока печени в брюшную полость. Кроме того, в процессе изучения туш и отбора проб на поверхности внутренних органов, в брызжейке, в полостях тела некоторых убитых оленей обнаруживали взрослых половозрелых особей данного вида гельминтов (рис.). Данные нематоды переносятся кровососущими насекомыми – комарами. Учитывая, что лето 2018 г.

Таблица 1

Результаты оценки эпизоотической ситуации по цестодовой инвазии домашних северных оленей в оленеводческих хозяйствах Мурманской области

Table 1

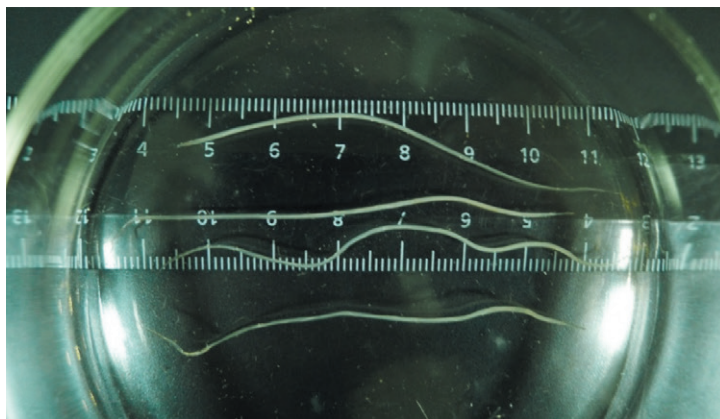
Results of assessing the epidemic situation of cestodiasis in domestic reindeer on reindeer farms in the Murmansk Oblast

Дата обследования	Половозрастная группа	Пораженный орган	Количество образцов	Диаметр цисты, мм	Наличие гельминта	Вид гельминта
с. Краснощелье						
18.02.2019	взрослые (2–4 года)	печень	2	14–20	да	<i>Taenia hydatigena</i>
			1	30	да	<i>Setaria tundra</i>
			2	5	нет	–
22.02.2019	взрослые (2–4 года)	печень	4	5–10	нет	–
23.02.2019	взрослые (2–4 года)	печень	1	5	да	<i>Taenia hydatigena</i>
			4	5–8	нет	–
04.03.2019	телята (самцы)	печень	3	12–22	да	<i>Taenia hydatigena</i>
26.03.2019	взрослые (2–4 года)	печень	4	13–30	да	<i>Taenia hydatigena</i>
			2	7–15	да	<i>Setaria tundra</i>
			2	5–15	нет	–
с. Сосновка						
13.01.2019	телята	печень	2	3	нет	–
14.01.2019	телята	печень	4	4–10	нет	–
16.01.2019	телята	печень	3	4–21	нет	–
17.01.2019	телята	печень	2	3–4	нет	–
с. Ловозеро						
19.12.2018	телята	легкое	1	25	да	<i>Echinococcus canadensis</i>
27.12.2018	телята	печень	1	15	нет	–
09.01.2019	телята	печень	1	30	да	<i>Taenia hydatigena</i>
			2	4	нет	–
10.01.2019	телята	печень	2	15–20	да	<i>Taenia hydatigena</i>
			1	3	нет	–
14.01.2019	телята	печень	1	12	да	<i>Taenia hydatigena</i>
			1	13	нет	–
22.01.2019	телята	печень	2	13–15	да	<i>Taenia hydatigena</i>
23.01.2019	телята	печень	1	10	да	<i>Taenia hydatigena</i>
12.02.2019	телята	печень	2	10–12	да	<i>Taenia hydatigena</i>
14.02.2019	телята	печень	5	10–22	да	<i>Taenia hydatigena</i>

было очень жарким для Мурманской области (в июле в отдельные дни температура днем достигала 29–31 °C), распространение данного гельминта среди северных оленей, возможно, ускорилось.

В результате исследования домашних северных оленей в оленеводческих хозяйствах Мурманской области из гельминтозных заболеваний были выявлены эхинококкоз и цистицеркоз. При этом была поражена

преимущественно печень, где в пузырьчатой форме паразитировали личинки возбудителя. В СХПК «Тундра» эхинококкоз выявлен у 0,04% северных оленей, цистицеркоз – у 0,5%. В СХПК ОПХ МНС «Оленевод» цистицеркозом поражено 0,81% северных оленей, эхинококкоз не установлен. В целом по оленеводческим хозяйствам цестодами были поражены 25 голов, что составило 0,62% от исследованного поголовья домашних

Рис. (Fig.) *Setaria tundra*

северных оленей, из них эхинококкоз диагностирован в 0,02% случаев, а цистицеркоз – в 0,59% (табл. 2).

Согласно информации Управления Роспотребнадзора по Мурманской области, с 2010 по 2017 г. в регионе было зарегистрировано всего три случая заболевания эхинококкозом у людей. При этом последний раз это заболевание наблюдалось дважды в 2015 г. Случаев цистицеркоза у людей отмечено не было.

Похожая ситуация с заболеванием эхинококкозом наблюдается и в Финляндии. Ежегодно при обследовании мяса дикого северного оленя ветеринарная служба страны (Evira) обнаруживает единичные случаи поражения эхинококками. В 2015 г. был зарегистрирован один случай заболевания эхинококкозом ребенка [17, 18].

По результатам микроскопического исследования кала плотоядных животных СХПК «Тундра» яйца эхинококка (*Echinococcus granulosus*) не были обнаружены. У собак разного типа содержания обнаружены яйца

нематод. Экстенсивность инвазии у собак составила 28%, при гельминтологическом вскрытии россомах – 100% (табл. 3).

В СХПК ОПХ МНС «Оленевод» в результате микроскопического исследования у плотоядных животных яйца эхинококка (*Echinococcus granulosus*) не были обнаружены. У собак разного типа содержания обнаружены яйца нематод. Экстенсивность инвазии составила 49% (табл. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследования внутренних органов (печени и легких) 4048 туш домашних северных оленей на наличие цестодовых пузырей определена экстенсивность эхинококковой и цистицеркозовой инвазии. В оленеводческих хозяйствах Мурманской области в основном выявлен цистицеркоз печени домашних северных оленей. Экстенсивность эхинококковой инвазии составила 0,02% от всего исследованного поголовья оленей, цистицеркозовой – 0,59%. Общеизвестно, что степень зараженности оленей личинками эхинококка в первую очередь зависит от качества и периодичности дегельминтизации оленегонных собак. Обследование собак, непосредственно контактирующих с северными оленями и продуктами убоя, показало наличие нематод. Случаев цестодоза у обследованных животных не выявлено.

В настоящее время эффективных мер борьбы с пузырьчатой формой возбудителя гельминтозов в оленеводстве не разработано. Поэтому основные профилактические меры должны быть направлены на дегельминтизацию собак с последующим уничтожением фекалий, а также выбраковку и уничтожение пораженных паренхиматозных органов и тканей оленей во время убоя. Учитывая, что в целом ситуация в регионе по заболеваемости цестодозами среди людей, в том числе непосредственно занятых в сфере

Таблица 2

Показатели экстенсивности инвазий, вызываемых цестодами *Taenia hydatigena* и *Echinococcus canadensis*, у домашних северных оленей в СХПК ОПХ МНС «Оленевод» и СХПК «Тундра»

Table 2

Indicators of the extensiveness of invasions caused by the cestodes *Taenia hydatigena* and *Echinococcus canadensis* in domestic reindeer at the APC HFE SEN "Olenevod" and APC "Tundra"

Хозяйство	Дата исследования	Убойный пункт, номер стада	Количество исследованных туш	Количество пораженных туш		Экстенсивность инвазии, %	
				цистицеркоз	эхинококкоз	цистицеркоз	эхинококкоз
СХПК ОПХ МНС «Оленевод»	январь 2019	с. Сосновка, № 3	396	–	–	–	–
	февраль 2019	с. Краснощелье, № 2	364	3	–	0,82	–
	март 2019	с. Краснощелье, № 2–3	476	7	–	1,47	–
Всего			1236	10	–	0,81	–
СХПК «Тундра»	декабрь 2018	с. Ловозеро, № 1	617	–	1	–	0,16
	январь 2019	с. Ловозеро, № 2, 8	1207	7	–	0,58	–
	февраль 2019	с. Ловозеро, № 1, 8	988	7	–	0,71	–
Всего			2812	14	1	0,50	0,04
ИТОГО			4048	24	1	0,59	0,02

олениводства, достаточно благоприятна по сравнению с другими регионами Российской Федерации, например Ямало-Ненецким автономным округом [19], можно констатировать, что мероприятия по предупреждению распространения гельминтозов среди домашних и сельскохозяйственных животных проводятся достаточно эффективно. Большое влияние на ситуацию по гельминтозам оказывают также наши ближайшие соседи по Арктическому региону.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 17, 18 см. REFERENCES)

- Исаков С. И. Гельминты и гельминтозы северных оленей Якутии и меры борьбы с ними. Якутск; 1992. 36 с.
- Почепко Р. А. Распространение и степень поражения северных оленей парамфистоматозом в Мурманской области. *Современное состояние и перспективы продовольственного обеспечения населения Севера РФ и его научного сопровождения: материалы совместного заседания СЗРНЦ и Комитета АПК Мурманской области*. Мурманск; 2014; 92–95. eLIBRARY ID: 25412926.
- Коколова Л. М., Сафронов М. Г., Платонов Т. А., Захаров Е. С., Верховцева Л. А., Гаврильева Л. Ю. Эпизоотологическая ситуация по зоонозам и паразитарным болезням животных и рыб в Якутии. *Вестник СВФУ*. 2012; 9 (3): 86–90. eLIBRARY ID: 20340425.
- Беляев В. И., Назарова П. С. Гельминты северных оленей Ненецкого автономного округа. В кн.: *Диагностика, профилактика и терапия болезней животных на Крайнем Севере: сборник научных трудов*. Новосибирск: СО ВАСХНИЛ; 1983; 95–98.
- Большакова В. А., Григорьев И. И. Гельминтозы молодняка домашних северных оленей в горно-таежной зоне Якутии. *Иппология и ветеринария*. 2019; 1 (31): 87–90. DOI: 10.13140/RG.2.2.36002.48328.
- Савельев В. Д. Паразитические черви промысловых млекопитающих и их циркуляция в тундровых биоценозах полуострова Таймыр: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Л.; 1975. 22 с.
- Григорьев И. И. Гельминты и гельминтозы домашних оленей горно-таежной зоны Якутии. *Вестник КрасГАУ*. 2015; 1 (100): 162–166. eLIBRARY ID: 23143146.
- Лайшев К. А., Забродин В. А., Прокудин А. В., Самандас А. М. Оценка эпизоотической ситуации в популяциях диких северных оленей Арктической зоны РФ (обзор литературы). *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2015; 4 (28): 38–44. eLIBRARY ID: 25005102.
- Казановский Е. С., Карабанов В. П., Клебенсон К. А. Ветеринарные проблемы оленеводства в регионе Европейского Севера России. *Российский паразитологический журнал*. 2016; 3 (37): 332–336. DOI: 10.12737/21657.
- Коколова Л. М., Исаков С. И., Платонов Т. А., Гаврильева Л. Ю., Григорьев И. И., Иванова З. К., Степанова С. М. Инвазионные болезни сельскохозяйственных животных Якутии. *Российский паразитологический журнал*. 2015; 1: 46–52. Режим доступа: <https://vniigis.elpub.ru/jour/article/view/133/136>.
- Шалаева Н. М. Экологические особенности гельминтофауны дикого северного оленя (*Rangifer tarandus* L.) Западного Таймыра. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: материалы докладов международной научной конференции*. 2017; 18: 533–534. eLIBRARY ID: 30283788.
- Шихалиева М. А., Голубев А. А., Сарбашева М. М., Биттиров А. М. Эпизоотологическая оценка гельминтозов серны, оленей и косули в Кабардино-Балкарской Республике. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2012; 4 (16): 36–38. eLIBRARY ID: 18152837.
- Бреславцев С. А., Ромашов Б. В. Роль диких копытных в циркуляции эхинококкоза в природных условиях Центрального Черноземья. *Современные проблемы общей и прикладной паразитологии: материалы XII научно-практической конференции памяти профессора В. А. Ромашова*. Воронеж: Научная книга; 2018; 5–10. eLIBRARY ID: 36474802.
- Бреславцев С. А., Ромашов Б. В. Роль диких копытных в циркуляции зоонозных гельминтозов в условиях Воронежской области. *Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства, проводимой на базе ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I»*. Воронеж: ФГБОУ ВО Воронежский ГАУ; 2016; 49–51. eLIBRARY ID: 29374309.
- О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2020. 299 с. Режим доступа: https://www.rosпотреbnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933 (дата обращения: 25.11.2020).

Таблица 3

Показатели экстенсивности инвазий, вызываемых гельминтами, у оленегонных, охотничьих и бродячих собак в СХПК «Тундра» Ловозерского района Мурманской области

Table 3

Indicators of the extensiveness of helminth-associated invasions in deer-herding, hunting and stray dogs in APC «Tundra», Lovozersky Raion, Murmansk Oblast

Виды плотоядных	Количество исследованных проб фекалий	Количество обнаруженных яиц гельминтов		Экстенсивность инвазий, %	
		цестод	нематод	цестод	нематод
Оленегонные собаки	19	—	3	—	15,8
Охотничьи собаки	11	—	2	—	18,2
Бродячие собаки	6	—	5	—	83,3
Росомаха	1	—	1	—	100,0
Всего	37	—	11	—	29,7

Таблица 4

Показатели экстенсивности инвазий, вызываемых гельминтами, у оленегонных, охотничьих и бродячих собак в СХПК ОПХ МНС «Оленевод» Ловозерского района Мурманской области

Table 4

Indicators of the extensiveness of helminth-associated invasions in deer-herding, hunting and stray dogs in APC HFE SEN «Olenevod», Lovozersky Raion, Murmansk Oblast

Виды плотоядных	Количество исследованных проб фекалий	Количество обнаруженных яиц гельминтов		Экстенсивность инвазий, %	
		цестод	нематод	цестод	нематод
Оленегонные собаки	27	—	9	—	33,3
Охотничьи собаки	5	—	1	—	20,0
Бродячие собаки	15	—	13	—	86,7
Всего	47	—	23	—	48,9

rosпотреbnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933 (дата обращения: 25.11.2020).

16. О заболеваемости эхинококкозом и альвеококкозом в Российской Федерации: письмо № 01/14780-13-32 от 24.12.2013. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Режим доступа: https://www.rosпотреbnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=1097 (дата обращения: 25.11.2020).

19. Лещев М. В., Бойкова Т. Г., Корниенко А. П. Распространение цестодозов у северных оленей в Ямало-Ненецком автономном округе. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2007; 6 (174): 121–122. eLIBRARY ID: 9497395.

REFERENCES

- Isakov S. I. Helminths and helminthiases of Yakutia reindeer and measures to combat them [Gel'minty i gel'mintozы severnykh oleney Yakutii i меры бор'by s nimi]. Yakutsk; 1992. 36 p. (in Russian)
- Pochepko R. A. Distribution and level of reindeer infestation with paramphistomatosis in the Murmansk Oblast [Распространение и степень поражения северных оленей парамфистоматозом в Мурманской области]. *Current state and prospects of food supply for the population of the North of the Russian Federation and its scientific support [Sovremennoe sostoyaniye i perspektivy prodovol'stvennogo obespecheniya naseleniya Severa RF i ego nauchnogo soprovozhdeniya]: Materials of the Joint Meeting of the SZRNTs and the Agro-Industrial Complex Committee of the Murmansk Oblast*. Murmansk; 2014; 92–95. eLIBRARY ID: 25412926. (in Russian)

3. Kokolova L. M., Safronov V. M., Platonov T. A., Zakharov E. S., Verkhovtseva L. A., Gavril'yeva L. Yu. Epizootological situation on zoonosis and parasitic diseases of animals and fish in Yakutia. *Vestnik of NEFU*. 2012; 9 (3): 86–90. eLIBRARY ID: 20340425. (in Russian)
4. Belyaev V. I., Nazarova P. S. Reindeer helminths of the Nenets Autonomous Okrug [Gel'minty severnykh oleney Neneckogo avtonomnogo okruga]. In: *Diagnostics, prevention and therapy of animal diseases in the Far North [Diagnostika, profilaktika i terapiya bolezney zhivotnykh na Krajnem Severe]*: Collection of Research Papers. Novosibirsk: SO VASHNIL; 1983; 95–98. (in Russian)
5. Bolshakova V., Grigoriev I. Helminthiasis of calves of domestic reindeer in the mountain taiga zone of Yakutia. *Hippology and Veterinary*. 2019; 1 (31): 87–90. DOI: 10.13140/RG.2.2.36002.48328. (in Russian)
6. Saveliev V. D. Parasitic worms of commercial mammals and their circulation in tundra biocenoses of the Taimyr Peninsula [Paraziticheskie chervi promyslovnykh mlekopitayushchikh i ih cirkulyaciya v tundrovyykh biocenozaх poluostrova Tajmyr]: Author's Abstract, thesis Candidate of Science (Biology). Leningrad; 1975. 22 p. (in Russian)
7. Grigoriev I. I. Helminths and helminthosis of the domestic deer in the Yakutian mountain and taiga zone. *Bulletin of KSAU*. 2015; 1 (100): 162–166. eLIBRARY ID: 23143146. (in Russian)
8. Layshev K. A., Zabrodin V. A., Prokudin A. V., Samandov A. M. The evaluation of the epizootic situation in the populations of wild reindeer of the Arctic zone of the Russian Federation (literature review). *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2015; 4 (28): 38–44. eLIBRARY ID: 25005102. (in Russian)
9. Kazanovsky E. S., Karabanov V. P., Klebenson K. A. Veterinary problems of reindeer husbandry in the European North of Russia. *Russian Journal of Parasitology*. 2016; 37 (3): 332–336. DOI: 10.12737/21657. (in Russian)
10. Kokolova L. M., Isakov S. I., Platonov T. A., Gavril'yeva L. J., Grigoriev I. I., Ivanova Z. K., Stepanova S. M. Infectious diseases in farm animals of Yakutia. *Russian Journal of Parasitology*. 2015; 1: 46–52. Available at: <https://vniigis.elpub.ru/jour/article/view/133/136>. (in Russian)
11. Shalaeva N. M. Ecological peculiarities of helminth fauna of wild reindeer (*Rangifer tarandus* L.) in the Western Taimyr. *Theory and Practice of Combating Parasitic Diseases [Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami]*: Materials of Reports of the International Scientific Conference. 2017; 18: 533–534. eLIBRARY ID: 30283788. (in Russian)
12. Shikhaliyeva M. A., Golubev A. A., Sarbasheva M. M., Bittirov A. M. Epizootological assessment of helminthiasis in chamois, red deer and roe deer in the Kabardino-Balkarian Republic. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2012; 4 (16): 36–38. eLIBRARY ID: 18152837. (in Russian)
13. Breslavtchev S. A., Romashov B. V. Role of wild animal in circulation of echinococcosis in natural conditions of Blacksoil Region. *Modern problems of general and applied parasitology [Sovremennye problemy obshchej i prikladnoj parazitologii]*: Materials of the XII Scientific-Practical Conference in Memory of Professor V. A. Romashov. Voronezh: Scientific book; 2018; 5–10. eLIBRARY ID: 36474802. (in Russian)

14. Breslavtchev S. A., Romashov B. V. The role of wild ungulates in the circulation of zoonotic helminthiasis in the Voronezh Oblast [Rol' dikih kopytnykh v cirkulyacii zoonoznykh gel'mintozov v usloviyakh Voronezhskoj oblasti]. *Materials of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 90th Anniversary of the Faculty of Veterinary Medicine and Livestock Technology, hosted by the Voronezh State Agrarian University named after Emperor Peter I*. Voronezh: FGBOU VO Voronezh GAU; 2016; 49–51. eLIBRARY ID: 29374309. (in Russian)
15. Public health situation in the Russian Federation in 2019 [O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossijskoj Federacii v 2019 godu]: Official Report. M.: Federal Service for Consumer Rights Protection and Human Welfare; 2020. 299 p. Available at: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=14933 (date of access: 25.11.2020). (in Russian)
16. On the incidence of echinococcosis and alveococcosis in the Russian Federation [O zabolevaemosti ehkinokokkozom i al'veokokkozom v Rossijskoj Federacii]: Letter No. 01/14780-13-32 dated 12.24.2013. M.: Federal Service for Consumer Rights Protection and Human Welfare. Available at: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=1097 (date of access: 25.11.2020). (in Russian)
17. Malkamäki S. *Echinococcus Canadensis* in reindeer in Northern Europe and Northwestern Siberia. One Arctic – One Health Conference 2019. (Oulu, Finland, February 7–9, 2019). Available at: https://www oulu.fi/sites/default/files/56/Malkamaki2019_OneArcticOneHealth_Ec.pdf (date of access: 20.06.2020).
18. Hämäläinen S., Kantele A., Arvonen M., Hakala T., Karhukorpi J., Heikkinen J., et al. An autochthonous case of cystic echinococcosis in Finland, 2015. *Euro Surveill*. 2015; 20 (42):30043. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2015.20.42.30043.
19. Leshchev M. V., Boykova T. G., Korniyenko A. P. Spread of cestodiasis of reindeers in the Yamal-Nenets autonomous district. *Siberian Herald of Agricultural Science [Sibirskii vestnik sel'skokhoziaistvennoi nauki]*. 2007; 6 (174): 121–122. eLIBRARY ID: 9497395. (in Russian)

Поступила 03.12.2020

Принята в печать 12.01.2021

Received on 03.12.2020

Approved for publication on 12.01.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Почепко Ростислав Арсеньевич, старший научный сотрудник лаборатории научного обеспечения сельскохозяйственного производства, ФГБНУ Мурманская ГСХОС, пос. Молочный, Мурманская обл., Россия.

Картасова Анастасия Петровна, кандидат сельскохозяйственных наук, временно исполняющий обязанности директора ФГБНУ Мурманская ГСХОС, пос. Молочный, Мурманская обл., Россия.

Лавикайнен Антти, доктор ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарных биологических наук факультета ветеринарной медицины Хельсинкского университета, Хельсинки, Финляндия.

Малкамьяки Санна, преподаватель кафедры ветеринарных биологических наук факультета ветеринарной медицины Хельсинкского университета, Хельсинки, Финляндия.

Rostislav A. Pochepko, Senior Researcher, Laboratory for Scientific Support of Agricultural Production, FSBSI "Murmansk State Agricultural Experimental Station", Molochnyy, Murmansk Region, Russia.

Anastasia P. Kartashova, Candidate of Agricultural Science, Interim Director, FSBSI "Murmansk State Agricultural Experimental Station", Molochnyy, Murmansk Region, Russia.

Antti Lavikainen, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Department of Veterinary Biosciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Helsinki, Finland.

Sanna Malkamäki, Lecturer, Department of Veterinary Biosciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Helsinki, Finland

Индикация биопленок микроорганизмов при болезнях органов пищеварения ягнят

Е. М. Ленченко¹, Н. П. Сачивкина², Д. А. Blumenкранц³, А. Ю. Арсенюк⁴

^{1,3} ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств» (ФГБОУ ВО «МГУПП»), г. Москва, Россия

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), г. Москва, Россия

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

³ ORCID 0000-0003-4724-6457, e-mail: blumenkrants@icloud.com

⁴ ORCID 0000-0002-8199-3045, e-mail: aarsenuk@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Приведены результаты морфометрических и денситометрических показателей биопленок микроорганизмов, выделенных при болезнях органов пищеварения ягнят. Установлены изменения количественного и видового состава микробиоценозов кишечника при болезнях органов пищеварения по сравнению с клинически здоровыми ягнятами. При проведении исследований методами оптической микроскопии выявили формирование трехмерной структуры биопленок в виде плотной сети, состоящей из грамотрицательных и грамположительных бактерий, дрожжевых клеток, гифальных и псевдогифальных форм, окруженных межклеточным полимерным матриксом. Наличие бластоспор обуславливало увеличение количества адгезированных к субстрату клеток, происходило формирование биологической пленки, состоящей из палочковидных и округлых клеток, удерживающихся на клетках микроскопических грибов. В процессе дисперсии при разрушении межклеточного матрикса и отделении бактериальных и дрожжевых клеток от микроколоний обособлялись разветвленные структуры и колонизировали свободные от микроорганизмов участки субстрата. Оценку интенсивности формирования биопленок изучаемыми микроорганизмами проводили, измеряя оптическую плотность через 48 ч культивирования. Результаты люминесцентных микроскопических исследований показали, что динамика изменений жизнеспособных структур микроорганизмов характеризовалась чередующимися периодами снижения и увеличения интенсивности формирования биопленки. В исследуемых культурах микроорганизмов выявляли клетки, характеризующиеся способностью к активному росту и размножению, образующие сменяющие друг друга субпопуляции. При детекции жизнеспособности микроорганизмов в составе биопленок дифференцировали жизнеспособные (зеленый спектр люминесценции) и нежизнеспособные клетки (красный спектр люминесценции).

Ключевые слова: Адгезия, биопленки, бактерии, дисперсия, микроскопические грибы, колонизационная резистентность, межклеточный матрикс, люминесценция.

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., Blumenкранц Д. А., Арсенюк А. Ю. Индикация биопленок микроорганизмов при болезнях органов пищеварения ягнят. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 59–67. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-59-67.

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 619:579.62:636.32/.38.053.2:616.3

Visualization of microbial biofilms in case of digestive disorders in lambs

E. M. Lenchenko¹, N. P. Sachivkina², D. A. Blumenkrants³, A. Yu. Arsenyuk⁴

^{1,3} Moscow State University of Food Production (FGBOU VO MGUPP), Moscow, Russia

² Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia

⁴ FGBI "The Russian State Centre for Animal Feed and Drug Standardization and Quality" (FGBI "VGNIKI"), 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

³ ORCID 0000-0003-4724-6457, e-mail: blumenkrants@icloud.com

⁴ ORCID 0000-0002-8199-3045, e-mail: aarsenuk@gmail.com

SUMMARY

The paper demonstrates morphometric and densitometric parameters of microbial biofilms recovered from lambs with digestive disorders. Changes of quantitative and species composition of the intestinal microbiocenoses in the lambs with digestive disorders were compared with the ones of the clinically healthy lambs. Light microscopy results demonstrated formation of three-dimensional biofilm structure in the form of dense grid consisting of gram-negative and gram-positive bacteria, yeast cells, hyphae and pseudohyphae surrounded with intracellular polymer matrix. Presence of blastospores aided to the increased number of cells attached to the substrate, and biofilm was formed, which consisted of rod and round cells attached to the microfungi cells. In the process of dispersion that occurred during the destruction of the intercellular matrix and bacterial and yeast cell detachment, branched structures separated from the microcolonies and colonized microorganism-free regions of the substrate. The intensity of biofilm formation by the microorganisms under study was evaluated by optic density measurement in 48 hours of cultivation. Fluorescence microscopy results demonstrated that the dynamics of changes of the viable microbial structures was specified by intermittent periods of increased or decreased biofilm formation intensity. Cells characterized by active growth and replication and forming alternating subpopulations were detected in the examined microbial cultures. When determining the viability of the microorganisms in the biofilms, the viable (green fluorescence) and non-viable (red fluorescence) cells were differentiated.

Keywords: Attachment, biofilms, bacteria, dispersion, microfungi, colonization resistance, intercellular matrix, fluorescence.

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., Blumenkrants D. A., Arsenyuk A. Yu. Visualization of microbial biofilms in case of digestive disorders in lambs. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 59–67. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-59-67.

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

Совокупность процессов циркуляции и резервации микроорганизмов в почвенных и водных биоценозах окружающей среды является экологической основой возникновения энзоотий, а также формирования очагов и распространения возбудителей инфекционных заболеваний на новые территории или акватории [1–2].

В структуре неонатальной патологии желудочно-кишечные и респираторные болезни составляют до 95,0%, этиологическим фактором которых являются *Salmonella* spp. и *Pasteurella* spp. [3]. При патологиях, клинически проявляющихся диареей, дегидратацией, токсемией, в частности при эшерихиозе, заболеваемость ягнят достигает 12,3–95,2%, летальность – 60,0–90,0% [4, 5]. В биотопах кишечника ягнят молозивного и молочного периодов наблюдали снижение концентрации бифидо- и лактобактерий и увеличение содержания токсигенных энтеробактерий, энтерококков и микроскопических грибов рода *Candida* [6–11]. Колонизация тонкого кишечника патогенными микроорганизмами, прежде всего грамотрицательными энтеробактериями, обусловлена морфофункциональными особенностями органов пищеварения животных раннего постнатального периода развития [12–14].

Наблюдается инцидентность резистентности к лекарственным препаратам микроорганизмов, выделенных из патологического материала и содержащего гнойных кожно-мышечных повреждений животных [15–18].

Контаминация микроорганизмами, обладающими высокой ферментативной активностью, в том числе при низких температурах, может происходить на всех технологических стадиях обработки и хранения пище-

вого сырья, что обуславливает социальную значимость проблемы [12, 19, 20].

Патогенез синдрома избыточного бактериального роста при транслокации микроорганизмов, реализации факторов вирулентности микроорганизмов обеспечивается адгезивными свойствами, являющимися одним из ключевых факторов при формировании архитектурной биопленки, характеризующихся увеличением оптической плотности, обуславливая длительность и ретроспективность диагностических исследований [21–23]. В биопленках полирезистентных штаммов *Candida parapsilosis* выявляли процессы диссоциации, денситометрические показатели концентрического фенотипа в 1,75 раза превышали показатели оптической плотности фенотипа формы «кратера вулкана», показатели оптической плотности гладких колоний были на 20,0–60,0% меньше по сравнению с другими фенотипами [24]. Популяции, подвергавшиеся воздействию неблагоприятных факторов, являлись гетерогенными, причем генетически не отличались от исходной популяции, сохраняли физиологическое разнообразие, необходимое для колонизации «очищенной» ниши или новой среды обитания [21, 23, 25, 27].

Для детекции жизнеспособных микроорганизмов в составе гетерогенной популяции *in vitro* и *in vivo* установлена эффективность инструментальных способов, позволяющих выявить полисахаридный межклеточный матрикс и метаболически активные клетки за счет взаимодействия красителей с полисахаридами клеточной стенки [28–30].

Фазово-контрастная микроскопия позволяет выявить показатель агрегации подвижных клеток, процессы агрегации клеток, оценить степень прироста биомассы

биофленок на различных этапах формирования в зависимости от состава и содержания кислорода в среде культивирования [31]. Электронно-микроскопические исследования биофленок грамотрицательных, грамположительных бактерий и микроскопических грибов позволяют раскрыть механизмы межклеточной коммуникации, сорбции и агрегации гетерогенных биофленок, циклические режимы роста, фенотипическую пластичность, обуславливающих персистенцию некультивируемых микроорганизмов в организме бактерионосителей в межэпизоотические периоды [12, 21, 23, 32].

Для раскрытия механизмов адаптации патогенов к паразитированию в организме восприимчивых видов, оптимизации схемы микробиологических исследований, разработки противоэпизоотических мероприятий, направленных на предупреждение заболеваний животных и получение безопасных продуктов животноводства, приоритетным направлением научных изысканий является апробация и подбор способов и методов исследований биофленок микроорганизмов, что и определило актуальность темы исследований.

Цель работы – изучить морфометрические и денситометрические показатели биофленок микроорганизмов при болезнях органов пищеварения ягнят.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы. В опытах использовали изоляты, выделенные из содержимого кишечника ягнят агинской породы в возрасте от 1 до 30 суток. Перед проведением исследований животных по принципу аналогов разделили на две группы: I – при болезнях органов пищеварения (опыт, $n = 5$); II – клинически здоровые ягнята (контроль, $n = 5$).

Питательные среды: сердечно-мозговой бульон, Chromocult® Coliform Agar, Cetrimide Agar, Yolk Salt Agar, HiCrome Candida Agar, Oxytetracycline Glucose Yeast Extract Agar, (HiMedia, Индия).

Тест-системы: ENTERO-Rapid, NEFERM test 24 (Erba-Lachema, Чехия), API Staph (bioMérieux, Франция), HiCandida Identification Kit (HiMedia, Индия).

Диагностические сыворотки: ФГП «Армавирская биофабрика» (Россия), РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышеселского» (Беларусь).

Индикация и идентификация микроорганизмов. Изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств микроорганизмов проводили общепринятыми методами в соответствии с Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (1984–1989) и «Определителем патогенных и условно-патогенных грибов» [33, 34]. Микроорганизмы культивировали при 37 °C в течение 24 ч, применяя жидкие и плотные питательные среды. Серологическую идентификацию эшерихий проводили диагностическими сыворотками, определяли адгезивные антигены K88, K99, 987P, F41, A20 в соответствии с рекомендациями «Наставления по применению агглютинирующих О-копи сывороток» (Москва, 1998).

Денситометрические показатели биофленок. Индикацию биофленок микроорганизмов проводили по степени связывания кристаллического фиолетового (HiMedia, Индия) при длине волны 490 нм. Исследуемые образцы вносили в лунки 96-луночного планшета (ОАО «Фирма Медполимер», Россия), культивировали 48 ч в статических аэробных условиях при 37 °C. Затем жидкость удаляли, лунки планшетов трижды промывали 200 мкл фосфатно-буферного раствора (рН 7,3).

На каждой стадии промывки планшеты встряхивали в течение 5 мин. Фиксацию производили 150 мкл 96%-го этанола в течение 15 мин, подсушивали 20 мин при 37 °C. Для окрашивания биофленок микроорганизмов в лунки вносили 0,5%-й раствор красителя и культивировали 5 мин при 37 °C. Содержимое лунок удаляли, трижды промывали 200 мкл фосфатно-буферного раствора (рН 7,3) и подсушивали. Связавшийся краситель элюировали из адгезированных клеток 200 мкл 96%-го этанола в течение 30 мин [35, 36].

Морфометрические показатели биофленок. Для оптической микроскопии микроорганизмы культивировали 18–48 ч при 37 °C на покровных стеклах, размещенных в чашках Петри с 20 мл мясопептонного бульона (МПБ) и 5 мл взвеси 18-часовых культур в концентрации 10^5 КОЕ/мл [21]. Препараты фиксировали смесью спирта с эфиром (1:1) 10 мин, окрашивали 0,5%-м раствором метиленового синего, водным раствором генцианвиолета в разведении 1:2000, с помощью набора для окраски по Граму («БиоВитрум», Россия). Для люминесцентной микроскопии использовали покровные стекла 18,0 × 18,0 мм (Corning Inc., США). Перед инокуляцией стекла промывали 70%-м этанолом в деионизированной воде, подсушивали при 70 °C в течение 30 мин. Покровные стекла помещали в лунки 12-луночных планшетов (ОАО «Фирма Медполимер», Россия), пипеткой наносили на их поверхность суспензию микроорганизмов ($OD_{600} = 0,08$) в объеме 5,0 мл на лунку и культивировали при 37 °C в течение 18–48 ч. Лунки планшета дважды промывали фосфатно-буферным раствором (рН 7,2) и подсушивали. Затем на поверхность стекла наносили 15 мкл красителя Live/Dead (Thermo Fisher Scientific, США) в концентрации 1 мг/мл, покрывали покровным стеклом, окрашивали 10 мин при 25 °C в темноте [37]. Микроскопические исследования проводили при репрезентативной выборке достоверной частоты встречаемости – $\geq 90,0\%$ поля зрения оптического микроскопа «Биомед МС-1» (ООО «Биомед», Россия); люминесцентного микроскопа Leica DMRB (Германия), оборудованного 100-кратным масляным иммерсионным объективом с дихроичным фильтром возбуждения длинной волны 510 нм и фильтром длинных частот 515 нм.

Результаты экспериментальных данных обрабатывали методом статистического анализа с использованием критерия достоверности Стьюдента, результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Индикация и идентификация микроорганизмов. При болезнях органов пищеварения ягнят наблюдали увеличение количественного состава бактерий и дрожжеподобных грибов, формирующих колонии на дифференциально-диагностических средах: Chromocult® Coliform Agar, Cetrimide Agar, Yolk Salt Agar, HiCrome Candida Agar (табл. 1).

На указанных питательных средах наблюдали увеличение количества микроорганизмов, выделенных при болезнях органов пищеварения ягнят (опыт), по сравнению с клинически здоровыми животными (контроль).

На среде Chromocult® Coliform Agar за счет наличия в составе среды додецилсульфата натрия подавлялся рост грамположительных бактерий, наблюдался рост грамотрицательных бактерий: опыт – $7,15 \pm 0,12$ – $9,33 \pm 0,26$; контроль – $3,13 \pm 0,12$ – $7,13 \pm 0,10$; индекс колонизации составил 0,831%.

Таблица 1

Количественный состав микроорганизмов при болезнях органов пищеварения

Table 1

Quantitative composition of microorganisms in case of digestive disorders

Среды	Количество микроорганизмов (КОЕ, Ig/g)		Индекс колонизации*, %
	Контроль	Опыт	
Chromocult® Coliform Agar ($n = 20$)	$3,13 \pm 0,12 - 7,13 \pm 0,10$	$7,15 \pm 0,12 - 9,33 \pm 0,26$	0,831
Cetrimide Agar ($n = 6$)	$1,01 \pm 0,12 - 2,01 \pm 0,10$	$2,84 \pm 0,11 - 3,03 \pm 0,16$	0,356
Yolk Salt Agar ($n = 6$)	$0,21 \pm 0,11 - 0,82 \pm 0,10$	$0,83 \pm 0,07 - 1,36 \pm 0,09$	0,253
HiCrome Candida Agar ($n = 6$)	$1,74 \pm 0,13 - 2,18 \pm 0,03$	$4,14 \pm 0,12 - 5,01 \pm 0,08$	0,420

* Отношение количества микроорганизмов (КОЕ, Ig/g) в 1,0 г исследуемого материала клинически здоровых животных (контроль) и количества микроорганизмов (КОЕ, Ig/g) в 1,0 г исследуемого материала при болезнях органов пищеварения (опыт).

* Proportion of microorganisms (CFU, Ig/g) in 1.0 g of the tested sample collected from clinically healthy animals (control) and microorganisms (CFU, Ig/g) in 1.0 g of the tested sample collected from the animals with digestive disorders (experimental).

При дифференциации микроорганизмов учитывали, что на указанной дифференциально-диагностической среде эшерихии, в связи с наличием ферментов β -галактозидазы и β -глюкуронидазы, расщепляющих одновременно два хромогенных субстрата, формировали фиолетового цвета колонии. Протеи и энтеробактеры, не имеющие указанных ферментов, формировали на среде бесцветные колонии. Клебсиеллы за счет расщепления ферментом β -галактозидазы хромогенного субстрата формировали колонии темно-розового цвета (рис. 1а).

Наличие триптофана в составе среды позволяло провести тест на образование индола, для этого на фиолетовые колонии наносили каплю реактива Ковача. При изменении цвета колоний до розово-красного в течение 3–5 сек тест считали положительным, что

позволило дифференцировать эшерихии от таксономически сходных видов энтеробактерий в течение 24 ч.

Энтеробактерии были каталазаположительные, оксидазаотрицательные, ферментирующие D-глюкозу и многоатомные спирты с образованием кислоты и газа. Эшерихии образовывали индол, утилизировали ацетат натрия, не образовывали сероводород, не утилизировали цитрат, малонат натрия, не продуцировали уреазу, фенилаланиндеаминазу, ферментировали сахарозу и дульцит. Клебсиеллы утилизировали глюкозу, цитрат натрия, продуцировали ацетилметилкарбинол, ферментировали инозит, гидролизировали мочевины, не образовывали индол, сероводород. Протеи образовывали сероводород, уреазу, редуцировали нитраты, гидролизировали желатин, ферментировали глюкозу,

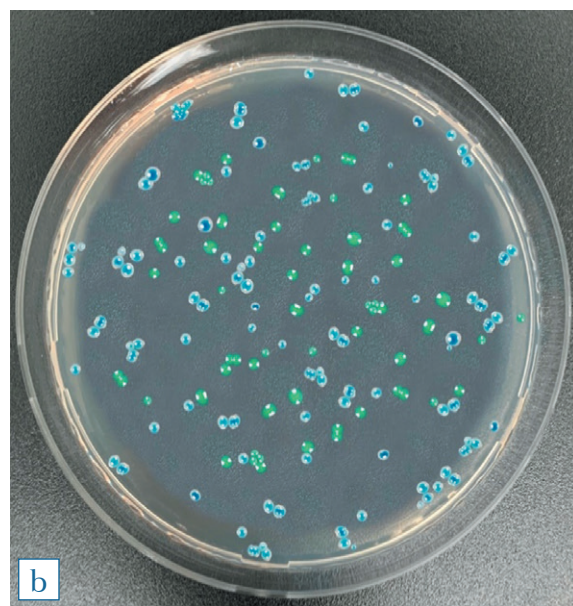
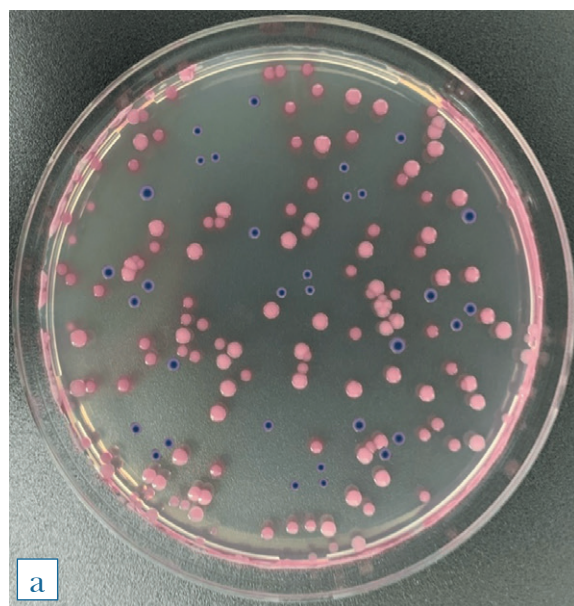


Рис. 1. Морфология колоний микроорганизмов микробиоценозов кишечника ягнят при болезнях органов пищеварения (рост при 37 °C, 48 ч):

а – Chromocult® Coliform Agar, 76×10^{-9} КОЕ; б – HiCrome Candida Agar, 68×10^{-9} КОЕ

Fig. 1 Morphology of microbial colonies in intestinal microbiocenes of lambs with digestive disorders:

а – Chromocult® Coliform Agar, 76×10^{-9} CFU; б – HiCrome Candida Agar, 68×10^{-9} CFU

давали положительную реакцию с метиловым красным, дезаминировали фенилаланин, не декарбоксилировали лизин, различались по способности утилизировать цитрат натрия. Энтеробактерии не образовывали индол и сероводород, ферментировали глюкозу, лактозу, рамнозу, ксилозу, мальтозу, сорбит, арабинозу, рафинозу, утилизировали цитрат, малонат натрия, гидролизировали желатин, различались по способности утилизировать инозит, дульцит, салицин, адонит (табл. 2).

При учете дифференциальных признаков из 20 выделенных грамотрицательных чистых культур микроорганизмов было идентифицировано 19 (95,0%) изолятов бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, из них 13 (65,0%) составили *Escherichia coli*, 4 (20,0%) – *Klebsiella pneumoniae*, 2 (10,0%) – *Proteus vulgaris*, 1 (5,0%) – *Enterobacter cloacae*.

При определении серологической принадлежности из 13 (65,0%) идентифицированных изолятов *E. coli* 3 (15,0%) положительно реагировали с поливалентной сывороткой группы № 1 (серогруппы O2, O78, O33); 4 (20,0%) – с сывороткой группы № 2 (серогруппы O9, O15, O26, O111), 2 (10,0%) – с сывороткой группы № 3. Четыре культуры микроорганизмов продуцировали адгезивные антигены: O33:F41 – 1 (5,0%), O111:A20 – 1 (5,0%), O2:A20 – 1 (5,0%), O9:A20 – 1 (5,0%).

Увеличение количества микроорганизмов при болезнях органов пищеварения наблюдали также и на среде Cetrimide Agar: опыт – $2,84 \pm 0,11$ – $3,03 \pm 0,16$; контроль – $1,01 \pm 0,12$ – $2,01 \pm 0,10$; индекс колонизации – 0,356%. Из 6 выделенных микроорганизмов идентифицирован 1 изолят (16,7%) грамотрицательных аэробных бактерий *Pseudomonas aeruginosa*. Указанные бактерии восстанавливали нитриты в нитраты, обладали протеолитической активностью (разжижали желатин и свернутую кровяную сыворотку, гидролизировали казеин), свертывали лакмусовое молоко и расщепляли сгусток, не ферментировали мальтозу, не образовали индол и сероводород.

Количество микроорганизмов увеличивалось и на среде Yolk Salt Agar, содержащей 10,0% натрия хлорида: опыт – $0,83 \pm 0,07$ – $1,36 \pm 0,09$; контроль – $0,21 \pm 0,11$ – $0,82 \pm 0,10$; индекс колонизации – 0,253%. Из 6 выделенных микроорганизмов идентифицировали 2 изолята (33,3%) грамположительных бактерий *Staphylococcus* spp.: *S. aureus* – 1 (16,7%), *S. epidermidis* – 1 (16,7%). Указанные бактерии формировали выпуклые непрозрачные колонии белого, золотистого, оранжевого, желтого цветов диаметром 2,0–2,5 мм. Отмечали наличие плазмокоагуляции сыворотки крови, содержащей 1,0–4,0% цитрата натрия, с образованием на предметном стекле сгустка, наблюдали рост в присутствии 15,0% хлорида натрия или 40,0% желчи. Микроорганизмы ферментировали глюкозу, маннит в анаэробных условиях, продуцировали аммиак, свертывали и пептонизировали молоко, не ферментировали дульцит, салицин, инулин.

Количество колоний микроорганизмов на среде HiCrome Candida Agar также увеличивалось: опыт – $4,14 \pm 0,12$ – $5,01 \pm 0,08$; контроль – $1,74 \pm 0,13$ – $2,18 \pm 0,03$; индекс колонизации – 0,420%. Из 6 выделенных микроорганизмов идентифицировали 3 изолята (50,0%) дрожжеподобных грибов: *Candida albicans* – 2 (33,3%), *Candida parapsilosis* – 1 (16,7%). Микроорганизмы на агаре Сабуро с глюкозой формировали гладкие, выпуклые, белого цвета, мягкой равномерной консистенции колонии (S-форма). На хромогенной среде микроскопические грибы *C. albicans* за счет расщепления ферментом β -N-ацетилгалактозаминидазы

Таблица 2

Дифференциация энтеробактерий по биохимическим свойствам

Table 2

Differentiation of enterobacteria by their biochemical properties

Биохимические признаки	Вид бактерий			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
Оксидаза	–	–	–	–
Каталаза	+	+	+	+
Лактоза	+	+	–	+
Индол	+	–	+	–
Сорбит	+	+	–	+
Сероводород	–	–	+	–
Цитрат	–	+	+	+
Мочевина	–	+	+	–
Желатин	–	–	+	+
Реакция Фогеса – Проскауэра	–	+	+	+

«+» – положительный тест (positive test result);

«–» – отрицательный тест (negative test result).

Таблица 3

Дифференциация дрожжеподобных грибов *Candida* spp. по биохимическим свойствам

Table 3

Differentiation of yeast-like fungi *Candida* spp. by their biochemical properties

Углеводы	Вид микроорганизмов	
	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>
Уреаза	–	–
Мелибиоза	–	–
Лактоза	–	–
Мальтоза	+	+
Сахароза	+	+
Галактоза	+	–
Целлобиоза	–	–
Инозит	–	–
Ксилоза	+	+
Дульцит	–	–
Рафиноза	–	–
Трегалоза	+	–

«+» – положительный тест (positive test result);

«–» – отрицательный тест (negative test result).

хромогенного гексаамидазного субстрата образовали колонии светло-зеленого цвета. Колонии *C. parapsilosis*, не имеющие указанного фермента, формировали на среде синие колонии (рис. 1b).

Таблица 4

Оценка интенсивности формирования биопленок бактериями по оптической плотности

Table 4

Determination of the bacterial biofilm formation intensity by optic density

Культуры микроорганизмов	Размеры клеток, нм	Оптическая плотность				
		OD _s			OD _c	t _d
		1	2	3		
<i>E. coli</i>	(1,4–3,8) × (0,5–0,8)	0,542	0,571	0,550	0,098	4,2
<i>K. pneumoniae</i>	(0,6–6,0) × (0,3–1,0)	0,514	0,493	0,502	0,099	4,4
<i>P. vulgaris</i>	(1,0–3,0) × (0,4–0,8)	0,284	0,279	0,275	0,097	4,2
<i>E. cloacae</i>	(0,6–1,0) × (1,2–3,0)	0,246	0,256	0,267	0,099	3,6
<i>P. aeruginosa</i>	(1,5–5,0) × (0,5–1,4)	0,458	0,462	0,454	0,098	3,9
<i>S. aureus</i>	(1,5–1,6)	0,481	0,485	0,477	0,098	4,4
<i>C. albicans</i>	(2,0–3,0) × (3,0–5,0)	0,520	0,532	0,526	0,099	4,5
<i>C. parapsilosis</i>	(1,7–2,0) × (3,0–4,0)	0,391	0,397	0,403	0,097	4,2

OD_s – исследуемый образец (tested sample); OD_c – контроль (control); t_d – коэффициент достоверности (confidence factor).

Дрожжеподобные грибы *Candida* spp. были способны расти в присутствии циклогексимида, сбраживали сахарозу, мальтозу, ксилозу, уреазной активностью не обладали. Микроорганизмы *C. albicans* сбраживали галактозу, *C. parapsilosis* не сбраживали трегалозу (табл. 3).

Денситометрические показатели биопленок микроорганизмов. Распределение изученных видов микроорганизмов по интенсивности формирования биопленки проводили согласно измерениям оптической плотности через 48 ч культивирования.

Согласно полученным результатам, значения абсолютных величин оптической плотности (OD_s) *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *C. albicans* составили 0,454 ± 0,09 – 0,526 ± 0,08, интенсивность формирования биопленок – I ≥ 0,3–0,4, следовательно, данные культуры являются сильными продуцентами биопленок.

При выявлении способности к образованию биопленки у культур *E. coli*, *K. pneumoniae*, *C. parapsilosis* определили, что оптическая плотность (OD_s) была в диапазоне 0,391 ± 0,07 – 0,571 ± 0,05, интенсивность

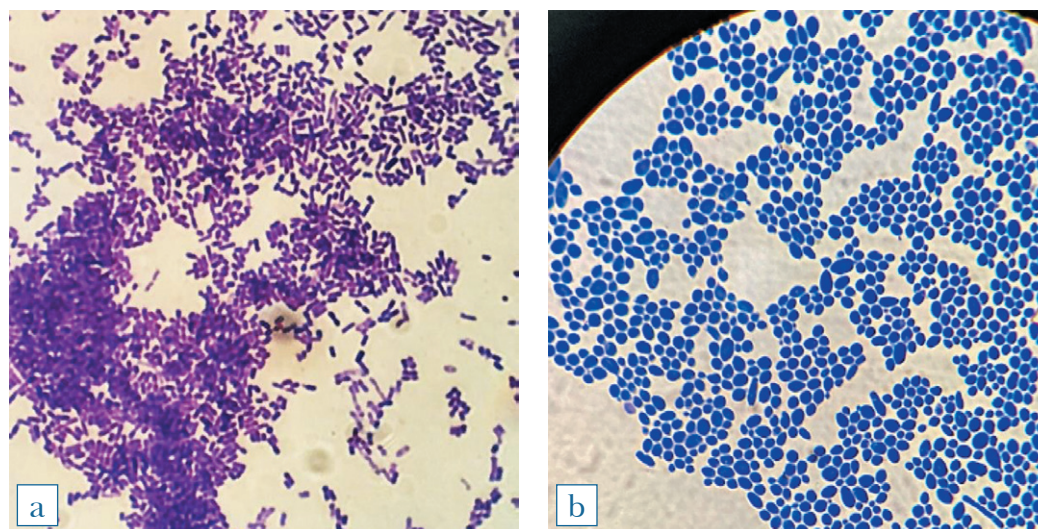


Рис. 2. Морфология биопленок микроорганизмов (рост при 37 °С, 48 ч, МПБ):

а – бактерии *K. pneumoniae*. Окрашивание метиленовым синим, ок. 10, об. 100, иммерсия;б – дрожжеподобные грибы *C. parapsilosis*. Окрашивание метиленовым синим, ок. 10, об. 100, иммерсия

Fig. 2. Morphology of microbial biofilms (growth at 37 °C, 48 hours, MPB):

а – *K. pneumoniae* bacteria. Staining with methylene blue, oc. 10, obj. 100, immersion;б – yeast-like fungi *C. parapsilosis*. Staining with methylene blue, oc. 10, obj. 100, immersion

формирования биопленок – $I \geq 0,2-0,3$. Таким образом, данные микроорганизмы были отнесены к группе умеренных продуцентов биопленок.

Установлено, что микроорганизмы *P. vulgaris*, *E. cloacae* обладали слабой способностью образовывать биопленку: оптическая плотность (OD_2) – $0,246 \pm 0,03 - 0,284 \pm 0,08$, интенсивность формирования биопленок – $I \geq 0,1-0,2$ (табл. 4).

Морфометрические показатели биопленок микроорганизмов. Через 18–48 ч культивирования при 37 °C с помощью оптической микроскопии препаратов, окрашенных генцианвиолетом, метиленовой синью и по Граму, были выявлены гетерогенные структуры биопленок изученных изолятов грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также дрожжеподобных грибов *Candida* spp. (рис. 2).

Реализация процессов межклеточной коммуникации происходила поэтапно: седиментация (оседание); фиксация (первичное прикрепление); формирование монослоя, межклеточных связей (коагрегация), рост микроколоний; формирование кластеров и архитектуры зрелых биопленок; дисперсия.

При разрушении межклеточного матрикса и отделении бактериальных и дрожжевых клеток от микроколоний дисперсия выявлялась в виде обособленных разветвленных структур, колонизирующих свободные от микроорганизмов участки субстрата.

Формирование трехмерной структуры биопленок в виде плотной сети, состоящей из грамотрицательных и грамположительных бактерий, дрожжевых клеток, гифальных и псевдогифальных форм, происходит за счет синтеза межклеточного полимерного матрикса. Как правило, в поливидовых биопленках наблюдали адгезию грамотрицательных и грамположительных бактерий к дрожжевым формам микроскопических грибов. Наличие бластоспор микроскопических грибов обуславливало увеличение количества адгезированных к субстрату клеток, формировались биопленки, состоящие из бактериальных клеток, удерживающихся на дрожжевых клетках (рис. 3).

При люминесцентной микроскопии через 18–72 ч культивирования динамика изменений жизнеспособных структур характеризовалась чередующимися периодами снижения и увеличения интенсивности формирования биопленок. В исследуемых культурах микроорганизмов выявляли клетки, характеризующиеся способностью к активному росту и размножению, образующие сменяющие друг друга субпопуляции. Смена периодов интенсивности роста микроорганизмов обусловлена наличием различных диссоциативных вариантов, получающих преимущество при формировании архитектуры биопленок. За счет взаимодействия флуоресцентных красителей с полисахаридами клеточной стенки в составе биопленок дифференцировали структуры метаболически активных клеток: зеленый спектр люминесценции – жизнеспособные клетки и красный – нежизнеспособные клетки (рис. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При болезнях органов пищеварения ягнят из 38 выделенных микроорганизмов было идентифицировано 26 изолятов, в том числе: *Escherichia coli* – 13, *Klebsiella pneumoniae* – 4, *Proteus vulgaris* – 2, *Enterobacter cloacae* – 1, *Pseudomonas aeruginosa* – 1, *Staphylococcus*

aureus – 1, *Staphylococcus epidermidis* – 1, *Candida albicans* – 2, *Candida parapsilosis* – 1.

Через 18–48 ч культивирования при 37 °C с помощью оптической микроскопии выявили формирования гетерогенной структуры биопленок изученных изолятов грамотрицательных и грамположительных бактерий, а также дрожжеподобных грибов *Candida* spp.

За счет взаимодействия флуоресцентных красителей с полисахаридами клеточной стенки в составе биопленок дифференцировали структуры метаболически активных клеток: зеленый спектр люминесценции – жизнеспособные клетки и красный – нежизнеспособные клетки.

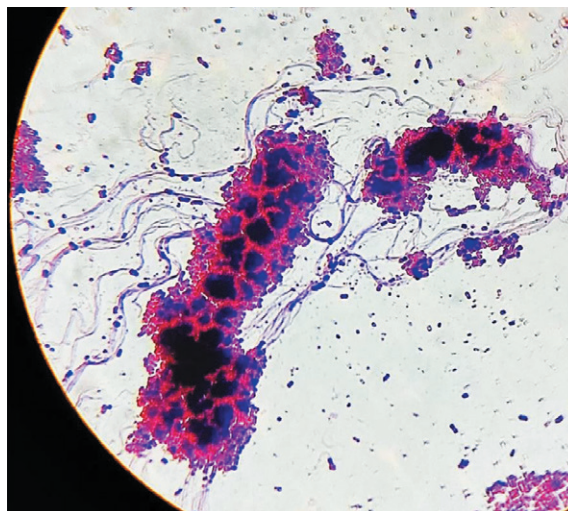


Рис. 3. Морфология биопленок микроорганизмов (рост при 37 °C, 48 ч, МПБ): бактерии *P. aeruginosa* и дрожжеподобные грибы *C. albicans*.

Окрашивание по Граму, ок. 10, об. 100, иммерсия

Fig. 3. Morphology of microbial biofilms (growth at 37 °C, 48 hours, MPB):

P. aeruginosa bacteria and yeast-like fungi *C. albicans*. Gram staining, oc. 10, obj. 100, immersion

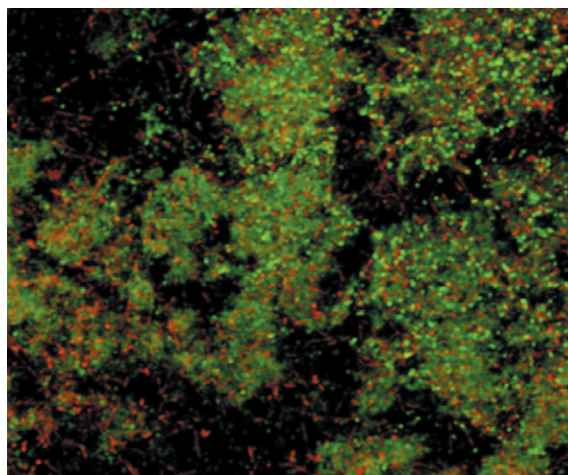


Рис. 4. Морфология биопленок бактерий *K. pneumoniae* (рост при 37 °C, 72 ч, МПБ). Комплекс красителей Live/Dead, ок. 10, об. 200, иммерсия

Fig. 4. Morphology of *K. pneumoniae* biofilms (growth at 37 °C, 72 hours, MPB).

Live/Dead stains, oc. 10, obj. 200, immersion

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 5, 11, 17, 18, 23–25, 27–29, 32, 33, 35–37 см. REFERENCES)

- Джупина С. И. Эпизоотический процесс и его контроль при факторных инфекционных болезнях. М.: РУДН; 2002. 70 с. Режим доступа: <https://ru1lib.org/ireader/3083115>.
- Макаров В. В. Факторные болезни. *Российский ветеринарный журнал*. 2017; 4: 22–27. eLIBRARY ID: 29188056.
- Прунтова О. В., Русалеев В. С., Гневашев В. М., Селиверстов В. В., Потехин А. В., Колотилова Т. Г. Антигенная активность бактерий *Salmonella choleraesuis* и *Pasteurella multocida* в ассоциированной вакцине при инактикации димером этиленimina. *Сельскохозяйственная биология*. 2003; 38 (6): 94–99. eLIBRARY ID: 18100818.
- Гнездилова Л. А. Эпизоотологическая характеристика, диагностика и профилактика смешанных инфекций овец с синдромом поражения репродуктивных органов: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. М.; 2005. 32 с. Режим доступа: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01003254498#?page=1>.
- Усачев И. И. Микробиоценоз кишечника, его оценка и контроль у овец, целенаправленное формирование у новорожденных ягнят: дис. ... д-ра вет. наук. М.; 2014. 368 с. Режим доступа: <http://viev.ru/wordpress/wp-content/uploads/2015/01/Dissertacija-Usachev-I-I.pdf>.
- Ленченко Е. М., Мансурова Е. А., Моторыгин А. В. Характеристика токсигенности энтеробактерий, выделенных при желудочно-кишечных болезнях сельскохозяйственных животных. *Сельскохозяйственная биология*. 2014; 49 (2): 94–104. DOI: 10.15389/agrobology.2014.2.94rus.
- Шамукова Д. Ф., Яковлева А. М., Сачивкина Н. П. Морфология грибов рода *Candida* и вопросы дифференциальной диагностики у собак и кошек. *Инновационные процессы в АПК: сборник статей VI Международной научно-практической конференции преподавателей, молодых ученых, аспирантов и студентов*. М.: РУДН; 2014; 201–203. eLIBRARY ID: 24406937.
- Пирожков М. К., Ленева С. В., Викторова Е. В., Стрельченко С. А., Тихонов Л. И., Скляр О. Д. Диагностика, специфическая профилактика и лечение при бактериальных болезнях животных. *Ветеринария*. 2011; 1: 24–28. eLIBRARY ID: 15577882.
- Курятова Е. В., Герасимова М. В., Тюкавкина О. Н., Гаврилов Ю. А., Гаврилова Г. А. Этиология возникновения гастроэнтеритов молодяка сельскохозяйственных животных в условиях Амурской области. *Дальневосточный аграрный вестник*. 2018; 1 (45): 60–66. DOI: 10.24411/1999-6837-2018-11010.
- Ленченко Е. М. Биология и экология иерсиний – возбудителей пищевых токсикоинфекций: дис. ... д-ра вет. наук. М.; 2000. 382 с.
- Клеменов А. В., Мартынов В. Л., Торгушина Н. С. Первичная недостаточность баугиниевой заслонки как висцеральный фенотипический маркер дисплазии соединительной ткани. *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2008; 2: 83–86. eLIBRARY ID: 15287251.
- Агарков Н. В. Макро- и микроморфология слепой кишки и ее кровеносного русла овец северокавказской породы в постнатальном онтогенезе: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ставрополь; 2018. 23 с. Режим доступа: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01008708014#?page=1>.
- Плешакова В. И., Колотило А. Н., Лещева Н. А. Факторы патогенности микроорганизмов, выделенных из питьевой воды и биопленки технологический элементов систем водоснабжения сельскохозяйственных предприятий. *Современные проблемы науки и образования*. 2013; 1: 476. eLIBRARY ID: 18829425. Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=8337>.
- Сахно Н. В., Тимохин О. В., Сахно О. Н. Совершенствование метода культивирования микроорганизмов. *Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса*. 2014; 1 (18): 45–47. eLIBRARY ID: 22369389. Режим доступа: http://www.nitu.ru/tpaprk/14_1.pdf.
- Прунтова О. В., Шадрова Н. Б. Современные методы определения микробиологической порчи пищевых продуктов и сырья (аналитический обзор). *Ветеринария сегодня*. 2017; 2: 27–33. Режим доступа: <https://veterinary.ariah.ru/jour/article/view/300>.
- Ермоленко З. М., Фурсова Н. К. Микробиологическая порча пищевых продуктов и перспективные направления борьбы с этим явлением. *Бактериология*. 2018; 3 (3): 46–57. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-3-46-57.
- Ленченко Е. М. Морфофункциональные свойства и популяционная изменчивость иерсиний, поражающих сельскохозяйственных животных, в зависимости от температурного фактора. *Сельскохозяйственная биология*. 1996; 6: 88–95.
- Милько Е. С., Красильникова Е. Н., Милько Д. М. Значение гетерогенности популяции бактерий, создаваемой процессом диссоциации, для роста пурпурных фотосинтезирующих бактерий в естественных местах их обитания. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. 2016; 3: 55–59. Режим доступа: <https://vestnik-bio-msu.elpub.ru/jour/article/view/344/0>.
- Пахомов Ю. Д. Получение, детекция и характеристика некультивируемых клеток бактерий: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.; 2013. 23 с. Режим доступа: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01005537423#?page=1>.
- Ленченко Е. М., Сачивкина Н. П. Исследование биопленок и фенотипических признаков грибов рода *Candida*. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2: 132–138. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-132-138.
- Филиппева Ю. А., Телешева Е. М., Евстигнеева С. С., Шелудько А. В., Пономарева Е. Г., Петрова Л. П., Кацы Е. И. О вкладе агрегации клеток и экстраклеточной ДНК в формирование и стабилизацию биопленок бактерий *Azospirillum brasilense*. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология*. 2018; 18 (4): 399–406. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-4-399-406.
- 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.

REFERENCES

- Dzhupina S. I. Epidemic process and its control in case of factor infectious diseases [Epizooticheskij process i ego kontrol' pri faktornyh infekcionnyh boleznyah]. M.: RUDN University; 2002. 70 p. Available at: <https://ru1lib.org/ireader/3083115>. (in Russian)
- Makarov V. V. Factor diseases. *Russian Veterinary Journal*. 2017; 4: 22–27. eLIBRARY ID: 29188056. (in Russian)
- Prunтова O. V., Rusaleev V. S., Gnevashев V. M., Seliverstov V. V., Potekhin A. V., Kolotilova T. G. Antigenic activity of *Salmonella choleraesuis* and *Pasteurella multocida* in associated vaccine inactivated by ethylene imine dimer. *Agricultural Biology [Sel'skokhozyaistvennaya biologiya]*. 2003; 38 (6): 94–99. eLIBRARY ID: 18100818. (in Russian)
- Gnezdilova L. A. Epidemic properties, diagnosis and prevention of mixed ovine infections involving reproductive malfunctions [Epizootologicheskaya harakteristika, diagnostika i profilaktika smeshannyh infekcij ovec s sindromom porazheniya reproduktivnyh organov]: Authors abstract Doctor of Science dissertation (Veterinary Medicine). M.; 2005. 32 p. Available at: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01003254498#?page=1>. (in Russian)
- Kjelstrup C. K., Barber A. E., Norton J. P., Mulvey M. A., L'Abée-Lund T. M. *Escherichia coli* O78 isolated from septicemic lambs shows high pathogenicity in a zebrafish model. *Vet. Res*. 2017; 48(3). DOI: 10.1186/s13567-016-0407-0.
- Usachev I. I. Intestinal microbiocenosis, its evaluation and control in sheep, targeted formation in newborn lambs [Mikrobiocenoz kishhechnika, ego ocenka i kontrol' u ovec, celenapravlennoe formirovanie u novorozhdennyh yagnyat]: Authors abstract Doctor of Science dissertation (Veterinary Medicine). M.; 2014. 368 p. Available at: <http://viev.ru/wordpress/wp-content/uploads/2015/01/Dissertacija-Usachev-I-I.pdf>. (in Russian)
- 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; 49 (2): 94–104. DOI: 10.15389/agrobology.2014.2.94eng.
- Shamukova D. F., Yakovleva A. M., Sachivkina N. P. Morphology and differential diagnosis of the fungi *Candida* in dogs and cats. In: *Innovation processes in agribusiness [Innovacionnye processy v APK]: Collection of the VI International Research-to-Practice Conference for lecturers, postgraduates and students*. M.: RUDN University; 2014; 201–203. eLIBRARY ID: 24406937. (in Russian)
- Pirozhkov M. K., Lenev S. V., Viktorova E. V., Strelchenko S. A., Tikhonov L. I., Scliarov O. D. Diagnosis, specific prophylaxis and treatment of bacterial diseases of animals. *Veterinariya*. 2011; 1: 24–28. eLIBRARY ID: 15577882. (in Russian)
- Kuryatova E. V., Gerasimova M. V., Tyukavkina O. N., Gavrilov Y. A., Gavrilova G. A. The etiology of the initiative of gastroenteritis of the youth of agricultural animals in the conditions of the Amur Region. *Far East Agrarian Bulletin*. 2018; 1 (45): 60–66. DOI: 10.24411/1999-6837-2018-11010. (in Russian)
- Sushma, Nehra V., Jakhar K. K. Aetio-pathological studies of digestive and respiratory affections in lambs. *Pharma Innovation*. 2018; 7 (5): 100–105. Available at: <https://www.thepharmajournal.com/archives/2018/vol7issue5/PartB/7-4-112-798.pdf>.
- Lenchenko E. M. Biology and ecology of *Yersinia* – agent of alimentary toxicological infections [Biologiya i ekologiya iersinij – vozбудitelej pishchevyh toksikoinfekcij]: Authors abstract Doctor of Science dissertation (Veterinary Medicine). M.; 2000. 382 p. (in Russian)
- Klemenov A. V., Martynov V. L., Torgushina N. S. Primary biliary valvule insufficiency as visceral phenotypical marker of connective tissue dysplasia. *Medical News of North Caucasus*. 2008; 2: 83–86. eLIBRARY ID: 15287251. (in Russian)
- Agarkov N. V. Macro- and micromorphology of coecum and its blood vessels in the North Caucasian sheep breed during postnatal ontogenesis [Makro- i mikromorfologiya slepoi kishki i ee krovenosnogo rusla ovec severokavkazskoj porody v postnatal'nom ontogeneze]: Authors abstract Candidate of Science thesis (Biology). Stavropol; 2018. 23 p. Available at: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01008708014#?page=1>. (in Russian)
- Pleshakova V. I., Kolotilo A. N., Lescheva N. A. Pathogenicity factors of microorganisms isolated from drinking water and biofilm technology

elements water system of agricultural enterprises. *Modern Problems of Science and Education*. 2013; 1:476. eLIBRARY ID: 18829425. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=8337>. (in Russian)

16. Sakhno N. V., Timokhin O. V., Sakhno O. N. Improving of the method for the cultivation of microorganisms. *Theoretical and Applied Problems of Agro-Industry [Teoreticheskie i prikladnye problemy agropromyshlennogo kompleksa]*. 2014; 1 (18): 45–47. eLIBRARY ID: 22369389. Available at: http://www.nitu.ru/tppapk/14_1.pdf. (in Russian)

17. Lerma L. L., Benomar N., Knapp C. W., Correa Galeote D., Gálvez A., Abriouel H. Diversity, distribution and quantification of antibiotic resistance genes in goat and lamb slaughterhouse surfaces and meat products. *PLoS One*. 2014; 9 (12): e114252. DOI: 10.1371/journal.pone.0114252.

18. Vuotto C., Longo F., Pascolini C., Donelli G., Balice M. P., Libori M. F., et al. Biofilm formation and antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* urinary strains. *J. Appl. Microbiol.* 2017; 123 (4): 1003–1018. DOI: 10.1111/jam.13533.

19. Pruntova O. V., Shadrova N. B. Modern methods for determination of microbiological spoilage of food products and raw food materials (analytical review). *Veterinary Science Today*. 2017; 2: 27–33. Available at: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/300>. (in Russian)

20. Ermolenko Z. M., Fursova N. K. Microbiological spoilage of food and promising approaches to combat the phenomenon. *Bacteriology*. 2018; 3 (3): 46–57. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-3-46-57. (in Russian)

21. Lenchenko E. M. Morphofunctional properties and population variability of *Yersinia* affecting farm animals, depending on the temperature factor [Morfofunktsional'nye svoystva i populyatsionnaya izmenchivost' iersinii, porazhayushchih sel'skokhozyajstvennykh zhivotnykh, v zavisimosti ot temperaturnogo faktora]. *Agricultural Biology [Sel'skokhozyaistvennaya biologiya]*. 1996; 6: 88–95. (in Russian)

22. Milko E. S., Krasilnikova E. N., Milko D. M. The value of heterogeneity of bacteria population, created by the process of dissociation, for the growth of purple photosynthetic bacteria in their natural habitat. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya*. 2016; 3: 55–59. Available at: <https://vestnik-bio-msu.elpub.ru/jour/article/view/344/0>. (in Russian)

23. Lenchenko E., Lozovoy D., Strizhakov A., Vatnikov Y., Byakhova V., Kulikov E., et al. Features of formation of *Yersinia enterocolitica* biofilms. *Vet. World*. 2019; 12 (1): 136–140. DOI: 10.14202/vetworld.2019.136-140.

24. Laffey S. F., Butler G. Phenotype switching affects biofilm formation by *Candida parapsilosis*. *Microbiology (Reading)*. 2005; 151 (Pt 4): 1073–1081. DOI: 10.1099/mic.0.27739-0.

25. Aertsen A., Michiels C. W. Stress and how bacteria cope with death and survival. *Crit. Rev. Microbiol.* 2004; 30 (4): 263–273. DOI: 10.1080/10408410490884757.

26. Pakhomov Yu. D. Production, detection and description of non-cultivated bacterial cells [Poluchenie, detektsiya i harakteristika nekul'tiviruemykh kletok bakterij]: Authors abstract Candidate of Science thesis (Biology). M.; 2013. 23 p. Available at: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01005537423#?page=1>. (in Russian)

27. Blinkova L. P., Pakhomov Yu. D., Dmitrieva O. V., Altshuler M. L. Non-culturable bacteria in lyophilized non spore-forming probiotics. In: *Proceedings of the 13th International Conference "Functional and Medical Foods with Bioactive Compounds: Science and Practical Application"*. Kyoto, Japan, May 11–12, 2013. Ed. by H. Nishino, T. Yoshikawa, D. Martirosyan. Dallas: Food Science Publisher; 2013; 79–80. Available at: <https://www.functional-foodscenter.net/files/82940156.pdf>.

28. Nagata T., Mukae H., Kadota J., Hayashi T., Fujii T., Kuroki M., et al. Effect of erythromycin on chronic respiratory infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* with biofilm formation in an experimental murine model. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004; 48 (6): 2251–2259. DOI: 10.1128/AAC.48.6.2251-2259.2004.

29. 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/vet-world.2020.197-200.

30. Lenchenko E. M., Sachivkina N. P. Studies of biofilms and phenotypic characteristics of *Candida* fungi. *Veterinary Science Today*. 2020; 2: 132–138. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-132-138.

31. Filip'echeva Yu. A., Telesheva E. M., Yevstigneyeva S. S., Shelud'ko A. V., Ponomareva E. G., Petrova L. P., Katsy E. I. On the contribution of cell aggregation and extracellular DNA to biofilm formation and stabilization in *Azospirillum brasilense* bacteria. *Izvestiya of Saratov University. New Series. Series: Chemistry. Biology. Ecology*. 2018; 18 (4): 399–406. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-4-399-406. (in Russian)

32. Sachivkina N., Lenchenko E., Strizhakov 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.

33. Bergey D. H., Holt J. G., Pfennig N., Bryant M. P. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Baltimore: Williams & Wilkins, 1989; 4. 2648 p.

34. Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. Identifier of pathogenic and opportunistic fungi [Opredelitel' patogennykh i uslovno patogennykh gribov]: trans. from English K. L. Tarasova, Yu. N. Kovaleva; ed. by I. R. Dorozhkova. M.: Mir; 2001. 468 p. (in Russian)

35. 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.

36. Cadavid E., Echeverri F. The search for natural inhibitors of biofilm formation and the activity of the autoinductor C6-AHL in *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13884. *Biomolecules*. 2019; 9 (2): 49. DOI: 10.3390/biom9020049.

37. Kirchhoff C., Cypionka H. Propidium ion enters viable cells with high membrane potential during live-dead staining. *J. Microbiol. Methods*. 2017; 142: 79–82. DOI: 10.1016/j.mimet.2017.09.011.

Поступила 29.12.2020

Принята в печать 17.02.2021

Received on 29.12.2020

Approved for publication on 17.02.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ленченко Екатерина Михайловна, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «МГУПП», г. Москва, Россия.

Сачивкина Надежда Павловна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии медицинского института Российского университета дружбы народов, г. Москва, Россия.

Блюменкранц Дмитрий Алексеевич, аспирант кафедры ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «МГУПП», г. Москва, Россия.

Арсенюк Анна Юрьевна, кандидат биологических наук, старший сотрудник отдела санитарной и клинической микробиологии ФГБУ «ВГНКИ», 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.

Dmitry A. Blumenkrants, Post-Graduate Student, Department of Veterinary Medicine, Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia.

Anna Yu. Arsenyuk, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Department of Sanitary and Clinical Microbiology, FGBI "VGNKI", Moscow, Russia.

Обзор: ключевые моменты в процессе становления микробиома млекопитающих

Е. В. Семенова¹, О. А. Манжурина², Ю. С. Пархоменко³

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» (ФГБНУ «ВНИВИПФит»), г. Воронеж, Россия

¹ ORCID 0000-0002-7456-0647, e-mail: elenasemenova1992@gmail.com

² ORCID 0000-0003-0147-8965, e-mail: manol65@mail.ru

³ ORCID 0000-0002-1460-5022, e-mail: yuliyasp21@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Данный обзор направлен на обобщение современного понимания становления микробиоты новорожденных млекопитающих на основе результатов современных исследований в экспериментах с животными в трех аспектах, включая начальную колонизацию, влияние микробиоты на иммунную функцию кишечника развивающегося новорожденного и воздействие внешних факторов на формирование микробиома в ювенильный период. Результаты представленных в статье исследований подтверждают, что коррекция микробного пейзажа – важнейший фактор улучшения здоровья животного с учетом того, что именно здоровая микрофлора способствует снижению частоты и интенсивности кишечных инфекций, а это, в свою очередь, минимизирует использование антибиотиков. Известно, что микробиом влияет на развитие иммунной системы, метаболические процессы и даже на этологию, в связи с чем нетипичная микробная популяция способна вызвать нарушения как иммунитета, так и метаболизма организма. Активный процесс взаимодействия микроорганизмов и организма хозяина начинается уже при рождении. Даже различные способы родов – кесарево или вагинальное родоразрешение – могут определять начальную колонизацию новорожденного. Кроме того, на формирование микробиоты кишечника влияют генетика особи, питание и окружающая среда. В связи с этим актуально изучение пробиотиков – понимание их эффективности при профилактике и лечении диареи, использование как альтернативы антибиотикам, а также для повышения устойчивости животных к стрессовым факторам.

Ключевые слова: Микробиом кишечника, колонизация, млекопитающие, молодняк, сельскохозяйственные животные.

Для цитирования: Семенова Е. В., Манжурина О. А., Пархоменко Ю. С. Обзор: ключевые моменты в процессе становления микробиома млекопитающих. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 68–71. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-68-71.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Пархоменко Юлия Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных и инвазионных болезней НИЦ ФГБНУ «ВНИВИПФит», 394000, Россия, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 114 б, email: yuliyasp21@mail.ru.

UDC 619:579.62:599

Review article: key aspects of mammal microbiome development

E. V. Semenova¹, O. A. Manzhurina², Yu. S. Parkhomenko³

FSBSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy" (FSBSI "ARVRIPP&T"), Voronezh, Russia

¹ ORCID 0000-0002-7456-0647, e-mail: elenasemenova1992@gmail.com

² ORCID 0000-0003-0147-8965, e-mail: manol65@mail.ru

³ ORCID 0000-0002-1460-5022, e-mail: yuliyasp21@mail.ru

SUMMARY

This review article summarizes current understanding of the microbiota development in neonatal mammals based on the results of modern experimental studies in animals focusing on three aspects: initial colonization, microbiota effect on the immune function of the developing newborn animal intestine and external factors influencing the microbiome shaping during the juvenile period. The presented study results confirm that the microbial landscape correction is the most important factor for animal health improvement since healthy microflora contributes to the intestinal infection frequency and intensity reduction, and this, in turn, minimizes the use of antibiotics. The microbiome is known to have an impact on the immune system development, metabolic processes and even on the ethology, so an atypical microbial population can cause immune and metabolic disorders. The active interaction between microorganisms and the host organism begins already at birth. Even different modes of delivery (caesarean or vaginal delivery) may determine the initial colonization of the newborn. The animal genetics, nutrition and environment also influence the intestinal microbiota development. In this regard, further studies of probiotics are important to understand their efficacy for diarrhea prevention and treatment, their use as an alternative to antibiotics as well as for enhancement of the animal resistance to stress factors.

Keywords: Intestinal microbiome, colonization, mammals, young animals, livestock animals.

For citation: Semenova E. V., Manzhurina O. A., Parkhomenko Yu. S. Review article: key aspects of mammal microbiome development. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 68–71. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-68-71.

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

For correspondence: Yuliya S. Parkhomenko, Junior Researcher, Laboratory for the Diagnosis of Infectious and Invasive Diseases of the Scientific and Testing Center, FSBSI "ARVRIPP&T", 394000, Russia, Voronezh, Lomonosova str., 114 b, e-mail: yuliyasp21@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

На животноводческих фермах желудочно-кишечная патология у молодняка, по сравнению с другими болезнями, является наиболее значимым экономическим фактором, ведущим к финансовым потерям. При диарее ухудшается всасываемость жидкостей и питательных веществ, что замедляет рост и негативно сказывается на здоровье животного в целом. Кроме того, без немедленного вмешательства данная патология интенсивно распространяется среди поголовья и может приводить к высокой смертности [1].

В настоящее время общепринятой практикой профилактики диареи является использование антибиотиков в отношении патогенных бактерий, часто ее вызывающих. Существенным недостатком при их применении является появление и распространение устойчивых к антибактериальным препаратам штаммов микроорганизмов [2]. На крупных животноводческих комплексах появление у бактерий генов устойчивости происходит очень быстро за счет постоянного нахождения большого количества особей на ограниченном пространстве [3]. Поэтому необходима эффективная и обоснованная альтернатива антибиотикопрофилактике диареи у молодняка сельскохозяйственных животных.

Многие исследования позволяют рассматривать микробиоту кишечника как важный фактор развития иммунной функции и поддержания здоровья новорожденных. С этой точки зрения кишечный микробиом обуславливает здоровье молодняка и сопротивляемость кишечным инфекциям. Тем не менее механизмы влияния микробиоты на развитие и становление иммунных и метаболических процессов в значительной степени не определены [4].

Еще Луи Пастер предположил, что микробиота оказывает важное влияние на жизнь млекопитающих. Животные как хозяева имеют богатую и разнообразную популяцию микроорганизмов, которая непосредственно оказывает влияние на механизмы таких биологических процессов, как иммунитет и метаболизм [5].

ВЛИЯНИЕ МИКРОФЛОРЫ НА ФОРМИРОВАНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ

Взаимодействие между хозяином и микрофлорой играет ведущую роль в определении правильного развития иммунной системы. Многие исследователи считают, что для животных критический период наступает сразу после рождения, когда для формирования иммунитета необходимо воздействие микробных антигенов [5–7]. Микрофлора оказывает влияние на филогенез иммунной системы, характер онтогенетического развития мукозального и общего иммунитета, а также на

эффективность и адекватность противоинфекционного ответа. Различные нарушения в процессе формирования микробиоты организма, особенно желудочно-кишечного тракта, ведут к иммунозависимым заболеваниям [7]. Это подтверждается исследованиями иммунной системы у стерильных животных, имеющих слаборазвитую мукозо-ассоциированную лимфоидную ткань, гипопластические пейеровы бляшки и характеризующихся уменьшением числа CD4⁺-лимфоцитов и IgA-продуцирующих плазматических клеток в собственной пластинке слизистой оболочки, при этом в лимфоидных органах отмечается сдвиг дифференцировки Т-клеток в сторону Т-хелперов 2-го типа и сниженная продукция γ -интерферона [6, 8].

В эксперименте с использованием стерильных мышей H. Sokol et al. продемонстрировали, что свободные от микрофлоры мыши имеют атипичный цитокиновый ответ на пероральное введение обработанного липополисахарида (макромолекула наружной мембраны грамотрицательных бактерий, активирующая иммунный ответ) по сравнению с обычными мышами, имеющими кишечную микрофлору. Отличие описанного атипичного ответа от нормального заключалось в его более позднем возникновении с последующим чрезмерным выделением цитокинов. При этом было установлено, что ювенильные стерильные мыши способны возобновить нормальный цитокиновый ответ на фоне приема *Bifidobacterium infantis*, в то время как у взрослых стерильных особей, получавших тот же пробиотик, нормализации иммунного ответа не происходило. Таким образом продемонстрировано, что стерильные животные не могут противостоять патогенам [5]. Также показана необходимость надлежащего развития собственной нормальной микрофлоры именно в раннем возрасте во избежание нарушения функционирования иммунной системы в дальнейшем.

В своих исследованиях I. H. Ismail et al. показали, что нарушения микробиома у молодых животных могут в дальнейшем привести к возникновению аутоиммунных заболеваний, в т. ч. аллергии. При этом авторами доказано, что развитие этих патологических состояний можно минимизировать с помощью применения пробиотиков [9].

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СТАНОВЛЕНИЕ МИКРОБИОТЫ

В настоящее время считается, что новорожденные млекопитающие стерильны, а первоначальная микробная колонизация их организма может происходить во время и сразу после рождения, когда микробы впервые взаимодействуют с организмом и заселяют его. Поскольку этот процесс происходит быстро,

предполагается, что он берет начало из родовых путей или при первом воздействии окружающей среды на новорожденных в случае кесарева сечения [6, 10, 11].

Контаминация объектов окружающей среды патогенными и условно-патогенными микроорганизмами зачастую оказывает негативное влияние на развитие микрофлоры, что выражается в снижении количества облигатных микроорганизмов в биотопе желудочно-кишечного тракта особи. Отечественными исследователями в эксперименте на телятах голштинской и чернопестрой породы были выделены *Bifidobacterium* spp. в 1 г фекалий клинически здоровых животных в разведениях 10^{-3} – 10^{-10} , тогда как у животных с диареей, токсемией и дегидратацией эти микроорганизмы не были обнаружены. Также у больных животных наблюдалось снижение количества лактозопозитивных штаммов эшерихий, возрастала численность лактозонегативных энтеробактерий и бактерий со слабой лактозной активностью, выявлялись гемолитические штаммы *Escherichia coli* [12].

В целом становление микробиоты – процесс динамический, следующий после первоначальной колонизации, который зависит от таких факторов, как генетика хозяина, диета, стрессы матери, взаимодействие с окружающей средой, раннее воздействие антибиотиков [13].

В частности, генетика макроорганизма определяет микросреду кишечника, которая, в свою очередь, влияет на пригодность внутренней среды для микробной колонизации. Z. A. Khachatryan et al. обнаружили явную связь между мутацией в генах и соответствующим сдвигом в микрофлоре кишечника, характеризующимся истощением общего количества бактерий, потерей разнообразия и значительными количественными изменениями популяций некоторых бактерий [14]. Тем не менее генетической связи между микробиотой кишечника и долгосрочными показателями роста и веса еще не обнаружено, поэтому необходимы дальнейшие исследования в этой области.

Пренатальный материнский стресс также может влиять на состав кишечной микробиоты потомства. По мнению D. Zhou et al., в этот период меняются физиологические параметры организма матери, включая учащенное сердцебиение и выделение гормонов стресса. Кроме того, в этих случаях может изменяться поведение, при котором увеличиваются или уменьшаются аппетит матери и уровень активности. Такие изменения могут повлиять на микрофлору материнского организма и потенциально в дальнейшем – на первоначальную колонизацию потомства при рождении. Материнский стресс также может приводить к повышению концентрации цитокинов и, как следствие, – к воспалению, что влияет на развивающийся плод, вызывая изменения уже в его иммунной функции [15].

ВЛИЯНИЕ МИКРОБИОТЫ НА ЭТОЛОГИЮ И АДАПТАЦИЮ

N. Sudo et al. представили данные о связи микроорганизмов с поведенческими реакциями хозяина в результате исследования, в котором сравнивали стерильных мышей и мышей, колонизированных бактериями. Чтобы проверить гипотезу о том, что послеродовая микробная колонизация может влиять на развитие пластичности головного мозга, исследователи сравнили гипоталамо-гипофизарную реакцию при различных

уровнях стрессовой нагрузки, используя две группы генетически идентичных мышей. Особи одной группы были стерильны, другой – колонизированы специфическими бактериями. В эксперименте мышей помещали в коническую пробирку объемом 50 мл на один час или в стеклянный контейнер, покрытый пропитанной эфиром фильтровальной бумагой, на 2,5 минуты. Более интенсивная стрессовая реакция была отмечена у стерильных мышей по сравнению с мышами, имеющими микрофлору. Кроме того, было отмечено снижение ответа на стресс у стерильных мышей после введения им пробиотика *Bifidobacterium infantis* [16].

В других исследованиях P. Bercik et al. обнаружили, что введение противомикробных препаратов колонизированным полным кишечным микробным сообществом мышам нарушало состав кишечной микробиоты и усиливало ответ на стрессовый фактор. При этом те же противомикробные препараты, вводимые стерильным животным, на их поведение не влияли [17]. Результаты этих исследований указывают на потенциальную связь между кишечной микрофлорой и поведением животных.

Опубликованные M. Vijay-Kumar et al. результаты экспериментов продемонстрировали причинное влияние микробиоты на метаболическую дисфункцию хозяина. Для этого были использованы мыши с генетически вызванным дефицитом Toll-подобных рецепторов 5 (TLR5). Как известно, данный мембранный белок играет ключевую роль во врожденном иммунитете кишечника и участвует в патогенезе хронического воспаления при ожирении. Затем микробиота этих мышей была инокулирована стерильным мышам дикого типа. У экспериментальных особей без TLR5 наблюдалась значительная гиперфагия и развивалось метаболическое заболевание. Стерильные мыши дикого типа, колонизированные микробными штаммами, полученными из кишечника животных с дефицитом TLR5, сразу демонстрировали отчетливые изменения кишечной микробиоты, а затем у них появлялись черты метаболического синдрома (тучность) [18]. Изменение телосложения мышей без микробов от нормального до тучного после колонизации специфической микробной популяцией позволяет предположить, что кишечная микробиота может влиять на метаболические функции хозяина.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Микробная колонизация молодняка оказывает серьезное влияние на физиологию и продуктивность животных. Именно в молодом возрасте микрофлора кишечника и ее правильное развитие способны в значительной мере определить дальнейшее функционирование некоторых систем, а также выступать в качестве потенциального инструмента для снижения заболеваемости диареей молодняка сельскохозяйственных животных [1]. В связи с этим наиболее актуальными являются исследования, направленные на изучение пробиотиков. Важно понимать, насколько они могут быть эффективными при профилактике и лечении диареи, могут ли они служить полноценной альтернативой антибиотикам и возможно ли их использование для повышения устойчивости животных к стрессовым факторам. Не менее важными аспектами являются влияние генетики и состояния организма матери на формирование микробиоты потомства. Учитывая тот факт,

что микробный пейзаж кишечника – очень подвижная и хрупкая система, необходимо избегать использования противомикробных препаратов с профилактической целью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 1, 5–10, 13–18 см. REFERENCES)

2. Шахов А. Г., Сашнина Л. Ю., Лебедев М. И., Лебедева Е. В. Исследование резистентности бактериальных возбудителей желудочно-кишечных и респираторных болезней поросят к антимикробным препаратам. *Доклады Российской академии сельскохозяйственной наук*. 2011; 2: 53–55. eLIBRARY ID:15594622.
3. Манжурина О. А., Скогорева А. М., Ромашов Б. В., Ромашова Н. Б. Современные тенденции антибиотикорезистентности микробиоты домашних и диких животных. *Вестник Воронежского ГАУ*. 2017; 1 (52): 41–45. DOI: 10.17238/issn2071-2243.2017.1.41.
4. Субботин В. В. Становление нормального микробиоценоза в постнатальном периоде у домашних животных. *Материалы Первого съезда ветеринарных фармакологов России*. 2007; 571–576. Режим доступа: <http://zoovet.info/vet-knigi/123-farmakologiya/veterinarnaya-farm/6716-stanovlenie-normalnogo-mikrobiotsenoza-v-postnatalnom-periode-u-domashnikh-zhivotnykh>.
11. Шахов А. Г., Сашнина Л. Ю., Федосов Д. В., Ерина Т. Е., Алехин Ю. Н. Формирование кишечного микробиоценоза у телят с синдромом гипотрофии в молочный период. *Сельскохозяйственная биология*. 2014; 49 (2): 105–111. DOI: 10.15389/agrobiology.2014.2.105rus.
12. Моторыгин А. В., Ленченко Е. М. Определение качественного и количественного состава микроорганизмов при дисбактериозе кишечника у телят. *Сельскохозяйственная биология*. 2011; 46 (2): 103–107. eLIBRARY ID: 16220466.

REFERENCES

1. Abe F., Ishibashi N., Shimamura S. Effects of administration of bifidobacteria and lactic acid bacteria to newborn calves and piglets. *J. Dairy Sci.* 1995; 78 (12): 2838–2846. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(95)76914-4.
2. Shakhov A. G., Sashina L. Yu., Lebedev M. I., Lebedeva Ye. V. Study of resistance of bacterial excitors of gastro-intestinal and respiratory diseases in piglets to antimicrobial preparations. *Russian Agricultural Sciences*. 2011; 2: 53–55. eLIBRARY ID: 15594622. (in Russian)
3. Manzhurina O. A., Skogoreva A. M., Romashov B. V., Romashova N. B. Modern trends in antibiotic resistance of the microbiota of domestic and wild animals. *Vestnik VSau*. 2017; 1 (52): 41–45. DOI: 10.17238/issn2071-2243.2017.1.41. (in Russian)
4. Subbotin V. V. Study of the development of intestinal microbial population of weaned animals. *Proceedings of the 1st Congress of Russian Veterinary Pharmacologists [Materialy Pervogo s'ezda veterinarnykh farmakologov Rossi]*. 2007; 570–575. Available at: <http://zoovet.info/vet-knigi/123-farmakologiya/veterinarnaya-farm/6716-stanovlenie-normalnogo-mikrobiotsenoza-v-postnatalnom-periode-u-domashnikh-zhivotnykh>. (in Russian)
5. Sokol H., Pigneur B., Watterlot L., Lakhdari O., Bermudez-Huamán L. G., Gratadoux J. J., et al. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc.Natl. Acad. Sci.* 2008; 105 (43): 16731–16736. DOI: 10.1073/pnas.0804812105.

6. Mazmanian S. K., Liu C. H., Tzianabos A. O., Kasper D. L. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell*. 2005; 122 (1): 107–118. DOI: 10.1016/j.cell.2005.05.007.
7. Sjögren Y. M., Tomicic S., Lundberg A., Böttcher M. F., Björkstén B., Sverremark-Ekström E., Jenmalm M. C. Influence of early gut microbiota on the maturation of childhood mucosal and systemic immune responses. *Clin. Exp. Allergy*. 2009; 39 (12): 1842–1851. DOI: 10.1111/j.1365-2222.2009.03326.x.
8. Macpherson A. J., Harris N. L. Interactions between commensal intestinal bacteria and the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2004; 4 (6): 478–485. DOI: 10.1038/nri1373.
9. Ismail I. H., Oppedisano F., Joseph S. J., Boyle R. J., Licciardi P. V., Robins-Browne R. M., Tang M. L. Reduced gut microbial diversity in early life is associated with later development of eczema but not atopy in high-risk infants. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2012; 23 (7): 674–681. DOI: 10.1111/j.1399-3038.2012.01328.x.
10. Rutayisire E., Huang K., Liu Y., Tao F. The mode of delivery affects the diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol.* 2016; 16 (1): 86. DOI: 10.1186/s12876-016-0498-0.
11. Shakhov A. G., Sashina L. Yu., Fedosov D. V., Erina T. E., Alekhin Yu. N. Intestinal microbiosis in hypotrophic milk-fed calves. *Agricultural Biology [Sel'skokhozyaystvennaya Biologiya]*. 2014; 49 (2): 105–111. DOI: 10.15389/agrobiology.2014.2.105eng. (in Russian)
12. Matorygin A. V., Lenchenko E. M. Methods of determination of qualitative and quantitative composition of microorganisms during intestine dysbacteriosis in calves. *Agricultural Biology [Sel'skokhozyaystvennaya Biologiya]*. 2011; 46 (2): 103–107. eLIBRARY ID: 16220466. (in Russian)
13. Laursen M. F., Andersen L. B., Michaelsen K. F., Mølgaard C., Trolle E., Bahl M. I., Licht T. R. Infant gut microbiota development is driven by transition to family foods independent of maternal obesity. *mSphere*. 2016; 1 (1): e00069-15. DOI: 10.1128/mSphere.00069-15.
14. Khachatryan Z. A., Ktsoyan Z. A., Manukyan G. P., Kelly D., Ghazaryan K. A., Aminov R. I. Predominant role of host genetics in controlling the composition of gut microbiota. *PLoS One*. 2008; 3 (8): e3064. DOI: 10.1371/journal.pone.0003064.
15. Zhou D., Zhang H., Bai Z., Zhang A., Bai F., Luo X., et al. Exposure to soil, house dust and decaying plants increases gut microbial diversity and decreases serum immunoglobulin E levels in BALB/c mice. *Environ Microbiol.* 2016; 18 (5): 1326–1337. DOI: 10.1111/1462-2920.12895.
16. Sudo N., Chida Y., Aiba Y., Sonoda J., Oyama N., Yu X. N., Kubo C., Koga Y. Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic-pituitary-adrenal system for stress response in mice. *J. Physiol.* 2004; 558 (Pt 1): 263–275. DOI: 10.1113/jphysiol.2004.063388.
17. Bercik P., Denou E., Collins J., Jackson W., Lu J., Jury J., et al. The intestinal microbiota affect central levels of brain-derived neurotrophic factor and behavior in mice. *Gastroenterology*. 2011; 141 (2): 599–609. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.04.052.
18. Vijay-Kumar M., Aitken J. D., Carvalho F. A., Cullender T. C., Mwangi S., Srinivasan S., et al. Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science*. 2010; 328 (5975): 228–231. DOI: 10.1126/science.1179721.

Поступила 25.11.2020

Принята в печать 11.01.2021

Received on 25.11.2020

Approved for publication on 11.01.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Семенова Елена Вячеславовна, младший научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных и инвазионных болезней НИЦ ФГБНУ «ВНИВФИТ», г. Воронеж, Россия.

Манжурина Ольга Алексеевна, кандидат ветеринарных наук, доцент, заведующий лабораторией диагностики инфекционных и инвазионных болезней НИЦ ФГБНУ «ВНИВФИТ», г. Воронеж, Россия.

Пархоменко Юлия Сергеевна, младший научный сотрудник лаборатории диагностики инфекционных и инвазионных болезней НИЦ ФГБНУ «ВНИВФИТ», г. Воронеж, Россия.

Elena V. Semenova, Junior Researcher, Laboratory for the Diagnosis of Infectious and Invasive Diseases of the Scientific and Testing Center, FSBSI "ARVRIPP&T", Voronezh, Russia.

Olga A. Manzhurina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Head of the Laboratory for the Diagnosis of Infectious and Invasive Diseases of the Scientific and Testing Center, FSBSI "ARVRIPP&T", Voronezh, Russia.

Yuliya S. Parkhomenko, Junior Researcher, Laboratory for the Diagnosis of Infectious and Invasive Diseases of the Scientific and Testing Center, FSBSI "ARVRIPP&T", Voronezh, Russia

DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-72-76
УДК 619:616.98:578.842.31:616-036.22(100)

МЭБ и ФАО объединяют усилия, чтобы противостоять африканской чуме свиней

Н. В. Лебедев¹, А. С. Иголкин², К. Н. Груздев³

¹ ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»), г. Москва, Россия

^{2,3} ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ e-mail: lebn@yandex.ru

² ORCID ID 0000-0002-5438-8026, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

³ ORCID ID 0000-0003-3159-1969, e-mail: gruzdev@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Африканская чума свиней — инфекционное заболевание домашних и диких свиней, которое в XXI в. вышло за пределы своего естественного ареала (Африканский континент) и с 2007 г. (после появления в Грузии) распространилось по многим странам Европейского и Азиатско-Тихоокеанского регионов. К началу 2021 г., по данным срочных сообщений и последующих отчетов, 68% всех зарегистрированных в мире вспышек инфекции приходилось на Европу. Однако наибольшие потери свиноводству нанесла вспышка, зарегистрированная в Азии в 2020 г., когда погибло 6 733 791 животное, что составляет 82% от общих мировых потерь отрасли из-за АЧС. После нескольких лет течения современной эпизоотии АЧС, при отсутствии вакцины и средств лечения, стало ясно, что серьезных проблем для свиноводческой отрасли (и в особенности мелких фермеров), а также дестабилизации мирового рынка свиноводческой продукции не избежать. В связи с этим в сентябре 2014 г. в Берне под эгидой ФАО/МЭБ GF-TADs была создана региональная Постоянная группа экспертов по АЧС в Европе (SGE ASF). Целью ее работы является налаживание более тесного сотрудничества между странами, затронутыми заболеванием, повышение транспарентности и обмен опытом профилактики и борьбы. Работа миссий постоянных экспертов по АЧС под эгидой GF-TADs в Европе показала свою эффективность и стала образцом для других регионов. В апреле 2019 г. аналогичная группа была создана и в Азии, чтобы противостоять быстрому развитию болезни в Азиатско-Тихоокеанском регионе, где сосредоточено более 60% мирового поголовья свиней. Прорабатывается вопрос создания новой постоянной группы экспертов по АЧС для стран Северной и Южной Америки. Результатом многолетней работы стало создание платформы ФАО/МЭБ/GF-TADs в качестве прогрессивного средства борьбы с такой трансграничной болезнью, как африканская чума свиней.

Ключевые слова: Африканская чума свиней, эпизоотия, группа экспертов, ФАО, МЭБ.

Для цитирования: Лебедев Н. В., Иголкин А. С., Груздев К. Н. МЭБ и ФАО объединяют усилия, чтобы противостоять АЧС. *Ветеринария сегодня*. 2021; 1 (36): 72–76. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-72-76.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Иголкин Алексей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий референтной лабораторией по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: igolkin_as@arriah.ru.

UDC 619:616.98:578.842.31:616-036.22(100)

OIE and FAO join forces to counter ASF

N. V. Lebedev¹, A. S. Igolkin², K. N. Gruzdev³

¹ FGBI "Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality" (FGBI "VGNKI"), Moscow, Russia

^{2,3} FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ e-mail: lebn@yandex.ru

² ORCID ID 0000-0002-5438-8026, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

³ ORCID ID 0000-0003-3159-1969, e-mail: gruzdev@arriah.ru

SUMMARY

African swine fever (ASF) is an infectious disease of domestic and wild pigs, which went beyond its natural range (African continent) in the XXI century and since 2007 (emergence in Georgia) has spread to many European and Asia-Pacific countries. According to the immediate notifications and follow-up reports, by early 2021 Europe accounted for about 68% of globally reported outbreaks. However, the greatest losses in the pig industry were inflicted by the outbreak recorded in Asia in 2020, when 6,733,791 animals died that accounted to 82% of the total global losses due to ASF. Just after several years of the current ASF epizootic, without any vaccine or treatment available, it became clear that major problems for the pig industry (mostly for small farmers) as well as destabilization of the global market of pig products were unavoidable. In this regard, in 2014 (Bern, September 2014) a regional standing group of experts on African swine fever (SGE ASF) was established under FAO/OIE GF-TADs umbrella. The aim of the group is to foster closer collaboration between the affected countries, increase transparency and share experience in prevention and control. The work of the permanent expert ASF missions under the GF-TADs umbrella has proven effective and become a model for other regions. A similar group was established in Asia in April 2019 to counter rapid spread of the disease in the Asia-Pacific region, where more than 60% of the world's pig population is concentrated, and a new permanent ASF expert group for the Americas is being considered. The many-year efforts resulted in the establishment of the FAO/OIE/GF-TADs platform as a progressive mechanism to combat such transboundary disease as African swine fever.

Keywords: African swine fever, epizootics, expert group, FAO, OIE.

For citation: Lebedev N. V., Igolkin A. S., Gruzdev K. N. OIE and FAO join forces to counter ASF. *Veterinary Science Today*. 2021; 1 (36): 72–76. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-72-76.

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

For correspondence: Alexey S. Igolkin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for African swine fever, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: igolkin_as@arriah.ru.

После эпидемии ящура 2001 г. в Европе, Южной Америке, Африке и Азии международным сообществом были приняты согласованные меры по борьбе с трансграничными инфекционными заболеваниями животных, оказывающими значительное воздействие на продовольственную безопасность, общественное здравоохранение и международную торговлю животноводческой продукцией. В результате данной работы разработана и принята глобальная рамочная программа прогрессивной борьбы с трансграничными болезнями животных (Global Framework for the Progressive Control of Transboundary Animal Diseases, GF-TADs), генеральное соглашение по которой между Продовольственной и сельскохозяйственной организацией ООН (ФАО) и Всемирной организацией здравоохранения животных (МЭБ) подписано 24 мая 2004 г. Данное соглашение предполагает участие Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) в вопросах профилактики зоонозов [1].

Учитывая проблемы, которые принесла африканская чума свиней (АЧС) в XXI в. в страны Европы и Азиатско-Тихоокеанского региона (рис. 1), под эгидой ФАО/МЭБ GF-TADs (Global Framework for the Progressive Control of Transboundary Animal Diseases) в сентябре 2014 г. в Берне была создана региональная Постоянная группа экспертов по АЧС (SGE ASF) для налаживания сотрудничества между странами, затронутыми этим заболеванием, повышения транспарентности и обмена опытом борьбы [2].

На первом совещании Постоянной группы экспертов по АЧС было решено:

1. Создать Постоянную группу экспертов по АЧС.
2. Согласовать порядок работы Постоянной группы экспертов по АЧС. От Российской Федерации в состав группы постоянных экспертов в Европе вошли кандидат ветеринарных наук Н. В. Лебедев (Россельхознадзор, 2014 г.), доктор биологических наук К. Н. Груздев и с 2017 г. кандидат ветеринарных наук А. С. Иголкин (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

В процессе функционирования Постоянная группа экспертов по АЧС в Европе под эгидой GF-TADs провела огромную работу по анализу деятельности компетентных органов по профилактике и ликвидации очагов АЧС в странах Восточной Европы, включая Украину, Беларусь, страны Прибалтики, а также Россию, и изучению причин вспышек инфекции. Для этого эксперты группы GF-TADs в рамках проведения миссий посещали неблагополучные по АЧС страны. Полученные данные анализировали и представляли на встречах – совещаниях экспертов GF-TADs: в Литве – в марте 2015 г.,

в Беларуси – в апреле 2015 г., в Латвии – в мае 2015 г.; в России – мае 2015 г.; на Украине – в сентябре 2015 г.; в Эстонии – в октябре 2015 г.; в Молдове – в октябре 2016 г.; в Чехии – в октябре 2017 г.; в Румынии – в декабре 2017 г.; в Болгарии – в январе 2019 г.; в Бельгии – в июне 2019 г. Кроме того, было проведено 15 совещаний Постоянных групп экспертов в Европе (SGE ASF1–15). В совещаниях принимали участие многочисленные делегаты от стран-наблюдателей по приглашению председателя GF-TADs доктора Б. Ван Гётема.

На 4-м совещании (SGE ASF4) в мае 2016 г. в Париже (Франция), во время работы 84-й Генеральной сессии МЭБ, обсуждались новые наработки в области эпидемиологии АЧС в регионе с целью усиления мер борьбы с этим заболеванием, предпринятых после встречи SGE ASF3. В соответствии с рекомендациями SGE ASF3, Молдова и Румыния присоединились к реализации инициатив стран-участниц.

На совещании, проведенном в мае 2017 г., были озвучены призывы к повышению бдительности в отношении АЧС в Румынии, Венгрии, Словении и Чехии, соседствующих с неблагополучными по данному заболеванию странами региона. Также была подчеркнута необходимость обмена имеющимися в странах информационно-просветительскими материалами по АЧС, ориентированными на широкую общественность (включая перевозчиков и туристов, охотников и фермеров). Собранные материалы размещены в депозитарии GF-TADs ASF (http://web.oie.int/RR-Europe/eng/Regprog/en_ASF_depository.htm). Данный ресурс находится в свободном доступе для пользователей и регулярно дополняется актуальной информацией.

Совещание SGE ASF10 состоялось 22 мая 2018 г. в Париже (Франция) в рамках 86-й Генеральной сессии МЭБ и было посвящено обновлению информации об эпизоотической ситуации и мерах борьбы в странах, входящих в группу SGE ASF, принятых в марте 2018 г. на заседании SGE ASF9. Венгрия была включена в список стран SGE ASF после подтверждения заболевания АЧС у дикого кабана, найденного мертвым 19 апреля 2018 г. на ее территории.

На совещании SGE ASF11 в 2018 г. в Варшаве (Польша) были одобрены рекомендации, касающиеся, в частности, надлежащего содержания диких кабанов в зараженных или еще не зараженных районах. В ходе мероприятия эксперты GF-TADs обсудили полученные данные по экологии и эпидемиологии дикого кабана в Европе, опыт охотников, а также новые данные о взаимосвязи вспышек АЧС в популяции диких кабанов и домашних свиней на неблагополучных территориях.

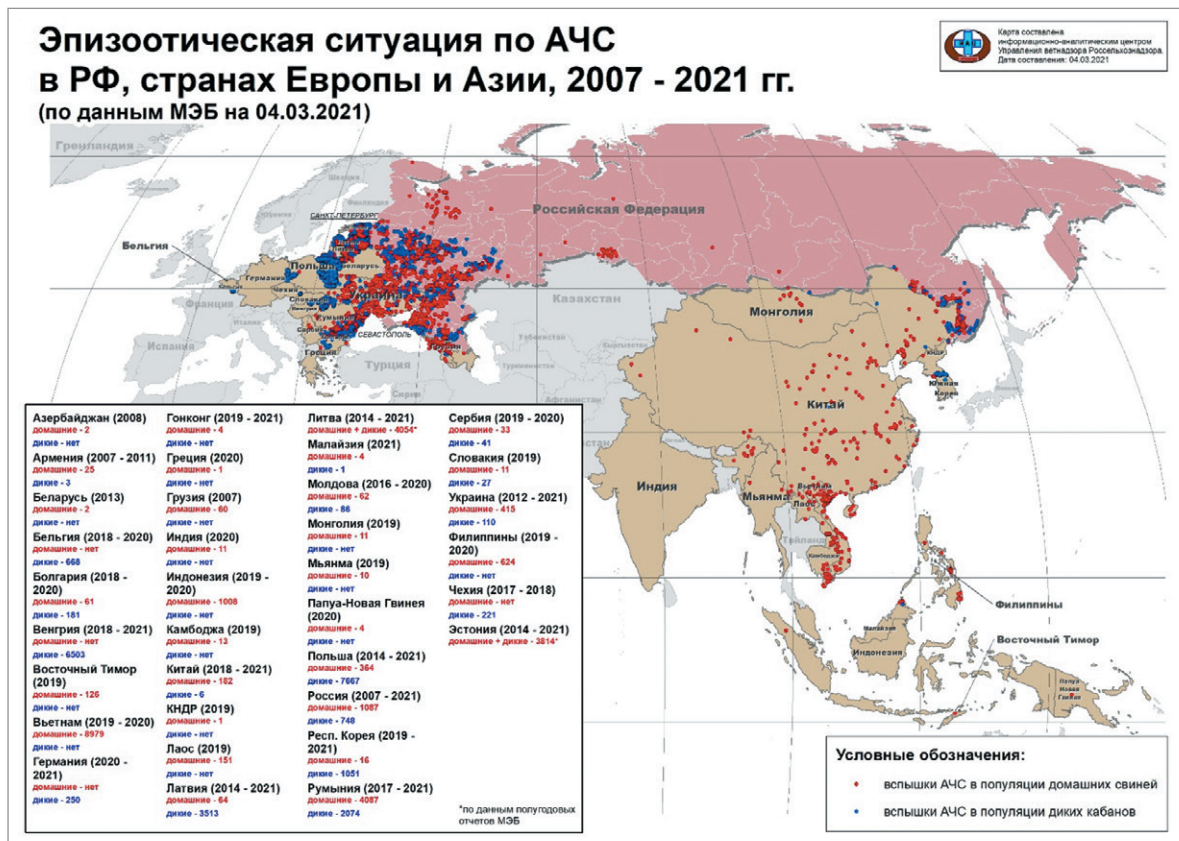


Рис. 1. Эпизоотическая ситуация по АЧС в Российской Федерации, странах Европы и Азии, 2007–2021 гг. (данная карта подготовлена сотрудниками информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Fig. 1. ASF epidemic situation in the Russian Federation, European and Asian countries, 2007–2021 (the map is prepared by the officers of the Information Analysis Centre, FGBI "ARRIAH")

В итоге заседания особо отметили необходимость скорейшего выпуска «Руководства МЭБ по африканской чуме свиней у диких кабанов и биозащите во время охоты» (V. Guberti et al.) с возможностью обновления документа по мере необходимости.

Заседание SGE ASF12 проходило 11 и 12 марта 2019 г. в Праге (Чешская Республика) совместно с BTSF (Better Training for Safer Food). Мероприятие включало технический тренинг по искоренению АЧС на основе опыта Чешской Республики в ликвидации данной инфекции в популяции дикого кабана.

Совещание SGE ASF13 состоялось 29 мая 2019 г. в Париже (Франция) в качестве параллельного мероприятия 87-й Генеральной сессии МЭБ, на нем присутствовали представители стран Европы, пострадавших от АЧС, а также наблюдатели со всего мира. Тринадцать европейских стран, неблагополучных по АЧС, доложили о текущей ситуации и принимаемых мерах. Региональное представительство МЭБ в Азии представило информацию о ситуации по заболеванию в своем регионе и шагах, предпринятых для создания рабочей группы экспертов по АЧС в регионе [3], а делегат из Канады сообщил о последних инициативах, реализуемых в Северной и Южной Америке, по повышению уровня профилактики и готовности к АЧС.

Расширенное заседание SGE ASF14 состоялось в сентябре 2019 г. в Софии (Болгария) под председательством генерального директора МЭБ г-жи Моник Элуа, в ходе него Балканские страны присоединились к По-

стоянной группе экспертов по АЧС в Европе (SGE ASF GF-TADs) [4].

Участники совещания указали, что последствия нынешнего глобального кризиса, связанного с АЧС, являются серьезной проблемой для свиноводческой отрасли, ставят под сомнение возможность дальнейшего существования мелких фермеров и дестабилизируют мировой рынок свиноводческой продукции.

С учетом анализа данных, собранных к настоящему времени в ходе миссий экспертов GF-TADs в Европе, наблюдается две основные закономерности протекания эпизоотии АЧС:

1) в большинстве стран болезнь встречается преимущественно в популяциях диких кабанов, иногда при полном отсутствии вспышек у домашних свиней;

2) проявление болезни в популяции домашних свиней происходит преимущественно в мелкотоварных фермах и личных подсобных хозяйствах.

Но не стоит исключать возможность возникновения вспышек АЧС на значительном удалении от пораженных зон (например, в Чешской Республике в июне 2017 г. вспышка произошла более чем в 500 км от зараженных зон Польши и Украины; в Бельгии в августе 2018 г. – примерно в 1000 км от ближайшей зараженной зоны в Польше) [5].

Полученный международным сообществом опыт в очередной раз показал, что, для того чтобы остановить распространение такого заболевания, против которого отсутствуют средства специфической про-

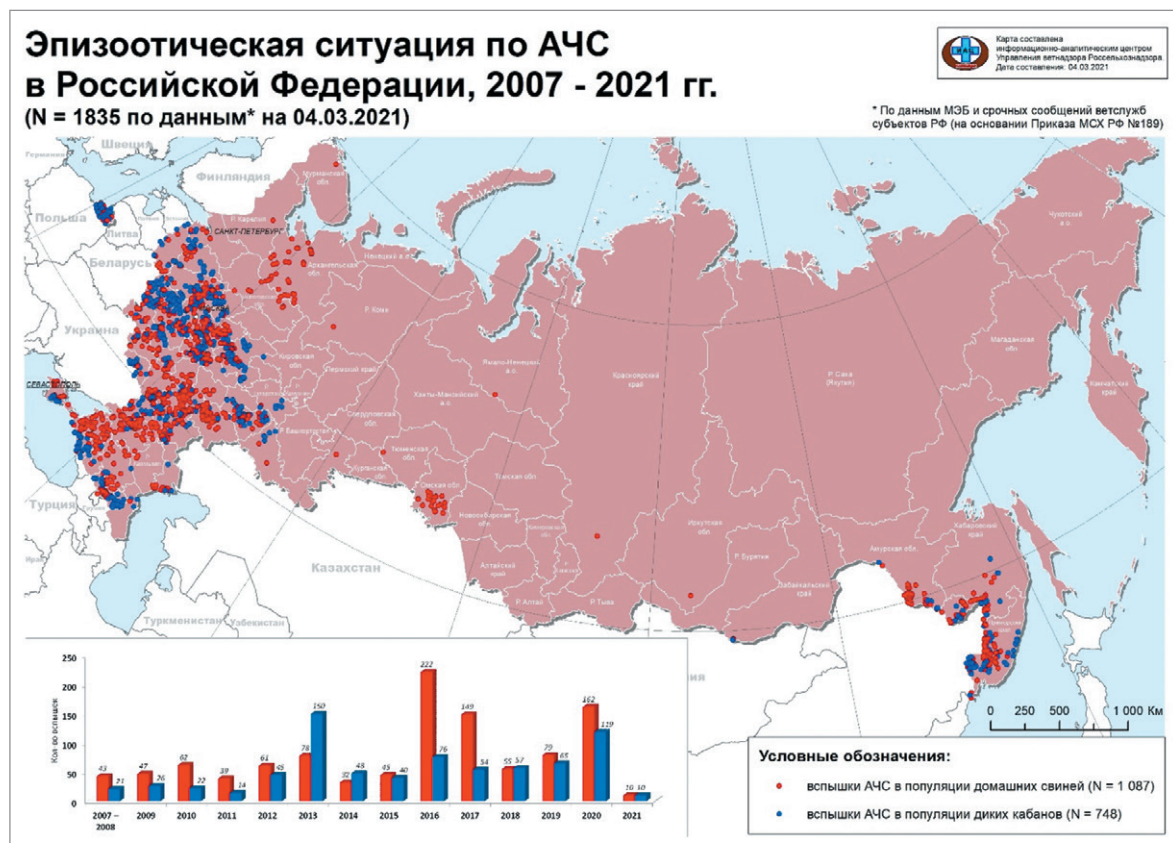


Рис. 2. Эпизоотическая ситуация по АЧС в Российской Федерации, 2007–2021 гг.
(данная карта подготовлена сотрудниками информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Fig. 2. ASF epidemic situation in the Russian Federation, 2007–2021
(the map is prepared by the officers of the Information Analysis Centre, FGBI "ARRIAH")

филактики, необходима эффективная координация действий, сотрудничество и обмен знаниями между всеми заинтересованными сторонами как на международном (национальном), так и региональном уровнях. Контроль АЧС возможен только при полном качественном соблюдении ветеринарных правил [4].

Пятнадцатое совещание Постоянной группы экспертов по АЧС (SGE ASF15), первоначально запланированное для очного проведения в Словакии, в связи с неблагоприятной ситуацией по новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в мире состоялось 6 мая 2020 г. в виде телеконференции. В нем приняли участие представители 31 страны – членов SGE ASF в Европе, а также Китая и Японии. Докладчики из стран – членов SGE ASF в Европе кратко охарактеризовали национальную эпизоотическую ситуацию по АЧС, сосредоточив внимание на изменениях, произошедших со времени последней встречи в Софии в сентябре 2019 г.

Был отмечен положительный опыт антикризисного управления ситуацией по АЧС в Бельгии.

Доклад о результатах миссии экспертов SGE ASF в Сербии, проведенной в декабре 2019 г. (с участием доктора ветеринарных наук К. Н. Груздева), одобрен без замечаний и размещен на странице GF-TADs веб-сайта МЭБ для Европы.

Запланированная на апрель 2020 г. миссия экспертов SGE ASF в Словакию была отложена из-за пандемии COVID-19.

В 2020 г. МЭБ и FAO в сотрудничестве с GF-TADs разработали онлайн-платформу «Инициатива по гло-

бальной борьбе с АЧС», в которой обобщен опыт элиминации АЧС в современных условиях и содержится стратегия для поэтапной борьбы с заболеванием [6, 7]. В конце июля 2020 г. эта платформа была запущена [8]. Предполагается, что FAO/МЭБ совместно с GF-TADs будут развивать эту инициативу путем поддержки национальных, региональных и глобальных партнерских отношений, усовершенствования мер профилактики и обеспечения готовности, а также минимизации неблагоприятных последствий АЧС [9].

Российская Федерация широко сотрудничает с FAO и МЭБ, выступая инициатором многочисленных предложений по профилактике и борьбе с инфекционными болезнями животных, в том числе с АЧС. Представители нашей страны активно участвуют в работе различных групп, комиссий этих организаций, в совещаниях, симпозиумах, конференциях, а также генеральных сессиях МЭБ. С момента появления АЧС на территории Грузии в 2007 г. Россельхознадзор настойчиво призывает мировую ветеринарную общественность и ветеринарные службы сопредельных государств к активному сотрудничеству, обмену накопленным опытом по профилактике и борьбе с АЧС. Отчеты Российской Федерации об обнаружении инфекционных заболеваний, направляемые в МЭБ через Всемирную информационную систему по охране здоровья животных (WAHIS), транспарентны и максимально полно отражают эпизоотическую ситуацию в стране (рис. 2).

Россельхознадзор проводит активную работу для усиления национальных санитарных мер, в том числе по биобезопасности в свиноводческих хозяйствах, мероприятия по регулированию численности дикого кабана, ведет просветительскую работу, актуализирует нормативную документацию, организует обмен научной информацией по этиологии, эпизоотологии, применению безопасных методов во всей цепочке производства и реализации свиноводческой продукции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В XXI в. африканская чума свиней (домашних и диких) расширила ареал своего распространения. В последние годы возросло число стран и территорий в Европе и Азии, затронутых АЧС. Признавая повышенный риск появления данного заболевания в любой стране мира и значительное его влияние на развитие свиноводства, торговлю, продовольственную безопасность, национальную и глобальную экономики, ФАО и МЭБ принимают активные меры, чтобы противостоять АЧС. Платформа ФАО/МЭБ GF-TADs оправдывает себя как прогрессивный механизм борьбы с такой трансграничной болезнью, как африканская чума свиней.

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

8. Россельхознадзор. Всемирная организация по охране здоровья животных представила доклад о глобальной ситуации по африканской

чуме свиней. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/asf/news/36748.html>.

REFERENCES

1. Global Framework for the Progressive Control of Transboundary Animal Diseases (GF-TADs). Available at: <http://www.gf-tads.org/>.
2. OIE. African swine fever. Available at: <https://rr-europe.oie.int/en/our-missions/animal-diseases/african-swine-fever/>.
3. OIE. African swine fever in Asia. Available at: <https://rr-asia.oie.int/en/projects/asf/>.
4. OIE. African swine fever. Available at: <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/african-swine-fever/>.
5. OIE. European politicians and scientists join forces to face ASF. Available at: <https://www.oie.int/en/for-the-media/press-releases/detail/article/european-politicians-and-scientists-join-forces-to-face-asf/>.
6. FAO/OIE. Global control of African swine fever: A GF-TADs initiative (2020–2025). Paris; 2020. 17 p. Available at: <http://www.fao.org/3/ca9164en/CA9164EN.pdf>.
7. OIE. Global control of African swine fever: A GF-TADs initiative. Available at: <https://rr-americas.oie.int/en/projects/gf-tads/>.
8. Rosselkhoz nadzor. World Organization for Animal Health presented a report on global African swine fever situation [Vsemirnaya organizatsiya po ohrane zdorov'ya zhivotnykh predstavila doklad o global'noj situatsii po afrikanskoj chume svinej]. Available at: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/asf/news/36748.html>. (in Russian)
9. OIE. Global action needed now to halt spread of deadly pig disease. Available at: <https://www.oie.int/en/for-the-media/press-releases/detail/article/global-action-needed-now-to-halt-spread-of-deadly-pig-disease/>.

Поступила 19.01.2021

Принята в печать 04.03.2021

Received on 19.01.2021

Approved for publication on 04.03.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Лебедев Никита Викторович, кандидат ветеринарных наук, начальник отдела анализа принципов эквивалентности при экспорте животных и животноводческой продукции ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия.

Иголкин Алексей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий референтной лабораторией по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Груздев Константин Николаевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Nikita V. Lebedev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Department for Analysis of Equivalence Principles at Exports of Animals and Animal Products, FGBI "VGNKI", Moscow, Russia.

Alexey S. Igolkin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for African swine fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Konstantin N. Gruzdev, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

ЖУРНАЛ «ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ» ПРИГЛАШАЕТ АВТОРОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ СВОИХ НАУЧНЫХ РАБОТ

- Журнал основан в 2012 г. на базе ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных».
- Статьи публикуются на двух языках: русском и английском.
- Основными направлениями являются результаты теоретических и экспериментальных исследований в области ветеринарии и ветеринарной микробиологии, тенденций развития ветеринарной науки, обсуждение актуальных вопросов в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных.
- Журнал распространяется по всей территории России, а также в крупнейших мировых научных центрах.
- Мы публикуем статьи как выдающихся, так и молодых ученых, специалистов-практиков, работников ветеринарных учреждений для обмена опытом, обеспечения устойчивого ветеринарного благополучия и новых научных дискуссий.

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.

ПОДРОБНЕЕ ОБ УСЛОВИЯХ ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ ВЫ МОЖЕТЕ УЗНАТЬ В НАШЕЙ РЕДАКЦИИ

Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьеvec

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

Узнайте больше на сайте журнала
<http://veterinary.arriah.ru/jour/index>



[Facebook.com/arriah.ru/](https://www.facebook.com/arriah.ru/)



@fgbi_arriah

**«Ветеринария сегодня» –
это прекрасная возможность
заявить о себе миру!**

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 пт). Оптимальный объем статьи: 3000–6000 слов.

Предоставление в редакцию рукописи статьи является подтверждением согласия автора на использование его произведения как в бумажном, так и в электронном виде. Авторы несут ответственность за полноту и достоверность цитируемой в их работах литературы, а также за публикацию заимствованного материала без ссылки на источник. Материалы направляются в редакцию с сопроводительным письмом от организации автора (форма на сайте).

СТРУКТУРА ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ

1. УДК

2. Название статьи

3. **Имя, отчество, фамилия авторов**, место работы, 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** (в случае финансирования исследования организацией или желания выразить благодарность определенным людям).

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, т. е. 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 пт, 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 помещаться 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.



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

OIE REFERENCE LABORATORY FOR HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA
AND LOW PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA (POULTRY) AND NEWCASTLE DISEASE

Анонс:

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» издано учебное пособие



Оспа овец и оспа коз: учебное пособие / А. В. Кононов, О. П. Бьядовская, К. А. Шалина, А. В. Спрыгин, В. И. Диев. – Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2021. – 46 с.: ил. ISBN 978-5-900026-75-6

Учебное пособие посвящено общим аспектам и особенностям эпизоотического процесса, диагностики и профилактики оспы овец и оспы коз. Рассмотренные болезни широко распространены практически во всем мире, включая территорию Российской Федерации. Они наносят значительный экономический ущерб.

В пособии подробно описаны проявления заболевания (патогенез, клинические признаки, патолого-анатомические изменения), изложены современные аспекты диагностики, профилактики и меры борьбы.

Материал сопровождается оригинальными иллюстрациями, полученными авторами при изучении оспы овец.

Учебное пособие предназначено для обучающихся по ветеринарному направлению (студентов, аспирантов, слушателей курсов повышения квалификации) как источник современных знаний по важным инфекционным заболеваниям – оспе овец и оспе коз. Представленный материал может быть полезен специалистам в области промышленного животноводства и врачам-эпизоотологам, а также практикующим ветеринарным специалистам.

Анонс:

ФГБУ «ВНИИЗЖ» информирует о проведении учебных мероприятий в мае 2021 года

В мае 2021 года на базе Федерального центра охраны здоровья животных (ФГБУ «ВНИИЗЖ» Россельхознадзора) запланировано проведение ряда учебных мероприятий для ветеринарных врачей территориальных управлений Россельхознадзора, республиканских, краевых и областных управлений (департаментов) ветеринарии и ветлабораторий субъектов РФ и стран СНГ:

– **12 мая** – обучающий вебинар по теме: **«Эпизоотологические особенности нотицируемых микоплазмозов птиц (*Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*), принципы их искоренения в промышленном птицеводстве, методы профилактики и терапии на территории Российской Федерации».**

Продолжительность мероприятия – 4 академических часа. Стоимость обучения одного слушателя – 1320 рублей, включая НДС. На вебинаре будет представлена информация о распространении микоплазмозов птиц в мире и на территории России, рассмотрены вопросы эпизоотологии и диагностики микоплазмозов и т. д.;

– **17–21 мая** – обучение по программе дополнительного профессионального образования на тему: **«Актуальные зоонозные заболевания»** в формате вебинара.

Продолжительность мероприятия – 24 академических часа. Стоимость обучения одного слушателя – 5820 рублей, включая НДС. В ходе обучения будут рассмотрены такие инфекционные заболевания, как сибирская язва, бруцеллез, туберкулез животных, кампилобактериоз, сальмонеллез, дерматофитоз, губкообразная энцефалопатия крупного рогатого скота и другие прионные болезни животных;

– **24–28 мая** – обучение по программе дополнительного профессионального образования на тему: **«Эпизоотология, диагностика, профилактика и меры борьбы с ящуром, оспой овец и оспой коз, чумой мелких жвачных животных в современных условиях».**

Продолжительность мероприятия – 72 академических часа, форма обучения – очно-заочная. Стоимость обучения одного слушателя – 85 000 рублей, включая НДС. В программу обучения включены вопросы по эпизоотологии, патогенезу и клиническим признакам ящура, оспы овец и оспы коз, чумы мелких жвачных животных. Кроме того, запланировано проведение клинического осмотра больных животных, патолого-анатомическое вскрытие и отбор проб для проведения лабораторных исследований.

Образовательная деятельность осуществляется на основании лицензии от 03.08.2011 № 001671 (регистрационный номер 1603), выданной Федеральной службой по надзору в сфере образования и науки.

Обучение проводят ведущие научные сотрудники ФГБУ «ВНИИЗЖ». По завершении обучения выдается сертификат об участии в вебинаре/ удостоверение о повышении квалификации.

Подробная информация о порядке зачисления на обучение размещена на сайте ФГБУ «ВНИИЗЖ» www.arriah.ru в разделе «Участие в обучающих вебинарах и семинарах».

Заявки на обучение принимаются по адресу: mail@arriah.ru

КОНТАКТНЫЕ ЛИЦА В ФГБУ «ВНИИЗЖ»:

Демидова Маргарита Федоровна
Тел.: (4922) 52-99-62, (4922) 26-15-12 (доп. 21-11)

E-mail: demidova@arriah.ru

Никешина Татьяна Борисовна
Тел.: 8 (4922) 26-15-12 (доп. 22-27)