



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

VETERINARY SCIENCE TODAY

АВГУСТ | AUGUST

ТОМ 10 № 3 2021

SCIENTIFIC JOURNAL

60 ЛЕТ АСПИРАНТУРЕ ВНИИЗЖ

Аспирантуре федерального
государственного бюджетного учреждения
«Федеральный центр охраны здоровья
животных» – 60 лет

стр. 178



Роль острых респираторных
заболеваний в патогенезе
инфекций дистального
отдела конечностей
крупного рогатого скота

стр. 190

Повышение иммунного статуса
у поросят интерферонсодержащими
препаратами при специфической
профилактике актинобациллезной
плевропневмонии

стр. 197

Изучение биологических
свойств штамма
«№ 2348 Италия/2008»
вируса везикулярной
болезни свиней

стр. 203

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

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

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

АВГУСТ ТОМ 10 № 3 2021

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

QUARTERLY SCIENTIFIC JOURNAL

AUGUST VOLUME 10 No. 3 2021

Published since 2012

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)

Миссией издания является представление информации об основных направлениях развития российской и мировой ветеринарной науки и практики и привлечение внимания научной общественности к актуальным проблемам и инновационным разработкам в области ветеринарии

Главный редактор: Метлин Артем Евгеньевич, доктор ветеринарных наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: metlin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-4283-0171; Scopus Author ID: 6505942586; ResearcherID: Z-2189-2019; Тел: 8 (4922) 26-09-18

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

Выпускающий редактор: Никешина Татьяна, 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: Плонский Александр

Редакционная коллегия:

Болдбаатар Базарцэрэн – PhD в области ветеринарии, Институт ветеринарной медицины, г. Улан-Батор, Монголия; Scopus Author ID: 26634733300

Бучацкий Леонид Петрович – д-р биол. наук, профессор, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев, Украина

Василевич Федор Иванович – д-р вет. 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; ResearcherID: K-9491-2015

Готов Александр Гаврилович – д-р вет. наук, профессор, ФГБУ «Сибирский федеральный научный центр агроботаники РАН», г. Новосибирск, Россия; ORCID ID 0000-0002-2006-0196; Scopus Author ID: 7004340265

Грин Светлана Анатольевна – д-р биол. наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», г. Щелково, Россия; AuthorID: 563647

Груздев Константин Николаевич – д-р биол. наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0003-3159-1969; Scopus Author ID: 6506731135

Гулюкин Михаил Иванович – д-р вет. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, ФГБУ «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; Scopus Author ID: 56114346900; ResearcherID: V-4640-2017

Забережный Алексей Дмитриевич – д-р биол. наук, профессор, ФГБУ «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; Scopus Author ID: 6507196549; ResearcherID: V-7959-2017

Иголкин Алексей Сергеевич – канд. вет. наук, заведующий лабораторией, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-5438-8026

Ирза Виктор Николаевич – д-р вет. наук, главный научный сотрудник, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0001-7489-1772

Кононов Александр Владимирович – канд. вет. наук, заместитель директора по НИР и развитию, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-5523-3261

Красочко Петр Альбинович – д-р вет. наук, д-р биол. наук, профессор, УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Беларусь; ORCID ID 0000-0002-4641-4757; Scopus Author ID: 6504022390

Кузьмина Елена Васильевна – д-р вет. наук, Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт – обособленное структурное подразделение ФГБУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», г. Краснодар, Россия; ORCID ID 0000-0003-4744-0823

Ломако Юрий Васильевич – канд. вет. наук, доцент, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского», г. Минск, Беларусь; ORCID ID 0000-0002-9611-8286; Scopus Author ID: 55996656700; ResearcherID: AAE-5001-2019

Макаров Владимир Владимирович – д-р биол. наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия; ORCID ID 0000-0002-8464-6380; Scopus Author ID: 7401689971

Махамат Нгуерабе Ямтитина – канд. вет. наук, Комратский государственный университет, г. Гагаузия, Молдова; ORCID ID 0000-0002-2738-0408

Мищенко Владимир Александрович – д-р вет. наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0003-3751-2168; Scopus Author ID: 7103128956

Мищенко Наталья Владимировна – д-р биол. наук, доцент, ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет им. А. Г. и Н. Г. Столетовых», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-3643-3129; Scopus Author ID: 7004534956

Настасиевич Иван – PhD в области ветеринарии, Институт гигиены и технологии мяса, г. Белград, Сербия; ORCID ID 0000-0002-7141-269X

Недосеков Виталий Владимирович – д-р вет. наук, профессор, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина; ORCID ID 0000-0001-7581-7478; Scopus Author ID: 57189580555

Никитин Иван Николаевич – д-р вет. наук, ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана», г. Казань, Россия; ORCID ID 0000-0002-3981-0882; ResearcherID: F-5330-2019

Плющиков Вадим Геннадьевич – д-р с.-х. наук, профессор, директор Аграрно-технологического института, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия; ORCID ID 0000-0003-2057-4602

Пронин Валерий Васильевич – д-р биол. наук, профессор, руководитель центра доклинических исследований, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-6240-3062; ResearcherID: C-3433-2014

Прохватилова Лариса Борисовна – канд. биол. наук, доцент, начальник отдела координации НИР, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-9560-0724; Scopus Author ID: 36244177300

Прунтова Ольга Владиславовна – д-р биол. наук, профессор, главный эксперт, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0003-3143-7339

Русалев Владимир Сергеевич – д-р вет. наук, профессор, ученый секретарь, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-4972-6326

Савченкова Ирина Петровна – д-р биол. наук, профессор, ФГБУ «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; Scopus Author ID: 6506749368; ResearcherID: D-3777-2014

Самарджия Марко – PhD в области ветеринарии, профессор, Загребский университет, факультет ветеринарной медицины, г. Загреб, Хорватия; ORCID ID 0000-0003-0402-3173; Scopus Author ID: 8410731800

Сидорчук Александр Андреевич – д-р вет. наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К. И. Скрябина», г. Москва, Россия; AuthorID: 508887

Сисягин Павел Николаевич – д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, г. Нижний Новгород, Россия; ORCID ID 0000-0003-1085-220X

Соколович Марьяна – PhD в области ветеринарии, Хорватский ветеринарный институт, Центр птицеводства, г. Загреб, Хорватия; ORCID ID 0000-0003-3373-7415

Старов Сергей Константинович – канд. вет. наук, старший научный сотрудник, ведущий эксперт по качеству (заместитель главного редактора), ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; AuthorID: 596191

Субботин Александр Михайлович – д-р биол. наук, профессор, Заместитель Премьер-министра Республики Беларусь, г. Минск, Беларусь; AuthorID: 4709795

Сулейманов Сулейман Мухитдинович – д-р вет. 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 Сергей Васильевич – д-р вет. наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА им. К. И. Скрябина», г. Москва, Россия; AuthorID: 460625

Чвала Илья Александрович – канд. вет. наук, заместитель директора по НИР и мониторингу, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; ORCID ID 0000-0002-1659-3256; Scopus Author ID: 57204228517

Шахов Алексей Гаврилович – д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии», г. Воронеж, Россия; ORCID ID 0000-0002-6177-8858

Шкуратова Ирина Алексеевна – д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, ФГБУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения РАН», г. Екатеринбург, Россия; ORCID ID 0000-0003-0025-3545

Эрдэнэбаатар Жанчивдорж – PhD в области ветеринарии, профессор, Институт ветеринарной медицины, г. Улан-Батор, Монголия

Дизайн и верстка: Бондарь Мария
Редактор-координатор: Мигулина Юлия
Редакторы-корректоры ФГБУ «ВНИИЗЖ»: Гусева Елена, Нурмухамбетова-Михайлова Юлия
Корректор: Зверева Ирина
Журнал «Ветеринария сегодня» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационно-коммуникационных технологий и массовых коммуникаций, свидетельство о регистрации № ФС 77-49033 от 21 марта 2012 г.

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 полнометровом 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.

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; e-mail: moscow@ural-press.ru

Учредитель: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьеvec, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Издатель: 000 «Вейнард», 129626, г. Москва, проспект Мира, д. 102, стр. 31, комн. 12
Адрес редакции: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьеvec, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Типография: 000 «Гран ПРИ», 152900, Ярославская область, г. Рыбинск, ул. Луговая, 7
Подписано в печать: 13 августа 2021 года
Дата выхода в свет: 25 августа 2021 года

16+

Creative Commons Attribution 4.0 License



The mission of the publication 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

Editor-in-Chief: Artem Ye. Metlin, Doctor of Science (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: metlin@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-4283-0171; Scopus Author ID: 6505942586; ResearcherID: Z-2189-2019; Tel: +7 (4922) 26-09-18

Editorial Director: Julia Melano, Advisor to the Head of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhozadzor), 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: +7 (4922) 26-15-12, ext. 22-27

Cover photo: Alexandr Plonskiy

Editorial Board:

Boldbaatar Bazartseren – PhD/DVM, Institute of Veterinary Medicine, Ulan Bator, Mongolia; Scopus Author ID: 26634733300

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

Fyodor I. Vasilyevich – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Academician of the RAS, FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA n. a. K. I. Skryabin", Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0003-0786-5317; ResearchID: K-9491-2015

Alexander G. Glotov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Siberian Federal Scientific Centre of Agro-Bio Technologies of the RAS, Novosibirsk, Russia; ORCID ID 0000-0002-2006-0196; Scopus Author ID: 7004340265

Svetlana A. Grin – Dr. Sci. (Biology), Professor, Corresponding Member of the RAS, FSBI "All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry", Schelkovo, Russia; AuthorID: 563647

Konstantin N. Gruzdev – Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0003-3159-1969; Scopus Author ID: 6506731135

Mikhail I. Gulyukin – Dr. Sci. (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; Scopus Author ID: 56114346900; ResearcherID: V-4640-2017

Alexey D. Zaberezhny – Dr. Sci. (Biology), Professor, FSBSI "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0001-7635-2596; Scopus Author ID: 6507196549; ResearcherID: V-7959-2017

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

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

Alexander V. Kononov – Cand. Sci. (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 – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Dr. Sci. (Biology), Professor, EE "The Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine", Vitebsk, Belarus; ORCID ID 0000-0002-4641-4757; Scopus Author ID: 6504022390

Elena V. Kuzminova – Dr. Sci. (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 – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Research Republican Unitary Enterprise the Institute of Experimental Veterinary Medicine n. a. S. N. Vyshel'sky, Minsk, Belarus; ORCID ID 0000-0002-9611-8286; Scopus Author ID: 55996656700; ResearcherID: AAE-5001-2019

Vladimir V. Makarov – Dr. Sci. (Biology), Professor, RUDN University, Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0002-8464-6380; Scopus Author ID: 7401689971

N. Ya. Makhamat – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Comrat State University, Gagauzia, Moldova; ORCID ID 0000-0002-2738-0408

Vladimir A. Mischenko – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0003-3751-2168; Scopus Author ID: 7103128956

Natalia V. Mischenko – Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Vladimir State University, Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-3643-3129; Scopus Author ID: 7004534956

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

Vitaly V. Nedosekov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine; ORCID ID 0000-0001-7581-7478; Scopus Author ID: 57189580555

Ivan N. Nikitin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), FSBEI HE "Kazan state academy of veterinary medicine n. a. N. E. Bauman", Kazan, Russia; ORCID ID 0000-0002-3981-0882; ResearcherID: F-5330-2019

Vadim G. Plyuschikov – Dr. Sci. (Agricultural Science), Professor, Director of Agrarian and Technological Institute, RUDN University, Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0003-2057-4602

Valery V. Pronin – Dr. Sci. (Biology), Professor, Head of the Centre for Preclinical Tests FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-6240-3062; ResearcherID: C-3433-2014

Larisa B. Prokhvatilova – Cand. Sci. (Biology), Associate Professor, Head of the Department for Research Coordination, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-9560-0724; Scopus Author ID: 36244177300

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

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

Irina P. Savchenkova – Dr. Sci. (Biology), Professor, FSBSI "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia; ORCID ID 0000-0003-3560-5045; Scopus Author ID: 6506749368; ResearcherID: D-3777-2014

Marko Samardžija – PhD/DVM, Professor, University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, Croatia; ORCID ID 0000-0003-0402-3173; Scopus Author ID: 8410731800

Alexander A. Sidorchuk – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA n. a. K. I. Skryabin", Moscow, Russia; AuthorID: 508887

Pavel N. Sisyagin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russia; ORCID ID 0000-0003-1085-220X

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

Sergey K. Starov – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Leading Quality Assurance Expert (Deputy Editor-in-Chief), FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; AuthorID: 596191

Alexander M. Subbotin – Dr. Sci. (Biology), Professor, Deputy Prime Minister of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus; AuthorID: 4709795

Suleiman M. Suleymanov – Dr. Sci. (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 – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, FSBEI HE "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA n. a. K. I. Skryabin", Moscow, Russia; AuthorID: 460625

Ilya A. Chvala – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Deputy Head for Research and Monitoring, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; ORCID ID 0000-0002-1659-3256; Scopus Author ID: 57204228517

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

Irina A. Shkuratova – Dr. Sci. (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

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

Design and composition: Maria Bondar
Coordinating Editor: Julia Migulina
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.

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, DOI, and http://veterinary.arriah.ru/jour/index. Registered trademark, certificate No. 514190.

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; +7 (499) 700-05-07, fax: 789-86-36 add. 3777; e-mail: moscow@ural-press.ru

Establisher: 600901, Vladimir, Yur'evets, FGBI "ARRIAH"
Publisher: 000 "Veinard", 129626, Moscow, 102 Prospect Mira, bld. 31, office 12
Editorial Board Office: 600901, Vladimir, Yur'evets, FGBI "ARRIAH"
Printing Office: 000 "Grand Prix", 152900, Yaroslavl Oblast, Rybinsk, Lugovaya str., 7
Approved for print: August 13, 2021
Issued: August 25, 2021

Creative Commons Attribution 4.0 License



16+

Содержание

ОБЗОРЫ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

- 178** Аспирантуре федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр охраны здоровья животных» – 60 лет
Т. В. Жбанова, Т. Б. Никешина, Н. А. Перевозчикова, Н. А. Марова

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ КРС

- 184** Метаболические заболевания крупного рогатого скота
В. А. Мищенко, А. В. Мищенко, Р. В. Яшин, В. А. Евграфова, Т. Б. Никешина

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

- 190** Роль острых респираторных заболеваний в патогенезе инфекций дистального отдела конечностей крупного рогатого скота
А. Д. Алексеев, О. Г. Петрова, М. И. Барашкин, И. М. Мильштейн, В. Д. Москвин

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

- 197** Повышение иммунного статуса у поросят интерферонсодержащими препаратами при специфической профилактике актинобациллезной плевропневмонии
А. Г. Шахов, Л. Ю. Сашнина, В. А. Прокулевич, Ю. Ю. Владимирова, М. И. Адодина
- 203** Изучение биологических свойств штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса везикулярной болезни свиней
Е. Н. Калинина, С. Н. Фомина
- 209** Сравнительное исследование ПЦР-наборов для выявления ДНК вируса АЧС
М. С. Красникова, С. П. Яцентюк, М. Б. Брюсова, А. Д. Козлова, М. А. Гергель
- 216** Влияние условий хранения сывороток крови свиней на выявление антител к вирусу АЧС методом ИФА
А. Р. Шотин, И. Ю. Жуков, А. С. Першин, Али Мазлум, И. В. Шевченко, А. С. Иголкин, О. А. Мануйлова, К. Н. Груздев

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

- 224** Сравнение иммуногенности вакцин против низкопатогенного гриппа птиц подтипа H9N2, изготовленных на основе вирусов генетических линий G1 и Y280
С. В. Фролов, Л. О. Щербакова, Н. В. Мороз, В. Н. Ирза, В. Ю. Кулаков

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БИОТЕХНОЛОГИЯ

- 230** Исследование биологических свойств перевиваемой суспензионной линии клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAN
М. И. Доронин, М. Н. Гусева, Д. В. Михалишин, А. С. Шарыпов, Н. С. Мудрак, Н. Е. Камалова, Б. Л. Манин

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

- 239** Переваримость питательных веществ рациона с рыбной мукой у приматов
Н. В. Гапонов, Л. Н. Гамко
- 243** Особенности подготовки и выдачи производственного штамма 5584 *Burkholderia mallei* в соответствии с требованиями биологической безопасности
Е. А. Артемьева, Л. А. Мельникова, А. П. Родионов
- 248** Репаративный гистогенез костной ткани при переломах бедренной кости у крыс при использовании биокомпозиционного материала на фоне иммунокоррекции
В. В. Решетняк, В. В. Бурдейный, В. В. Пронин, Е. А. Искалиев
- 254** Анализ организации ветеринарно-санитарной экспертизы в субъектах Российской Федерации
А. М. Селянин, М. А. Шибаев, А. В. Бельчихина, А. К. Караулов

Contents

REVIEWS | GENERAL ISSUES

- 178** 60th Anniversary of Postgraduate School of Federal State-Financed Institution "Federal Centre for Animal Health"
T. V. Zhanova, T. B. Nikeshina, N. A. Perevozchikova, N. A. Marova

REVIEWS | BOVINE DISEASES

- 184** Metabolic diseases in cattle
V. A. Mischenko, A. V. Mischenko, R. V. Yashin, V. A. Yevgrafova, T. B. Nikeshina

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 190** Role of acute respiratory diseases in pathogenesis of distal limb infections in cattle
A. D. Alekseev, O. G. Petrova, M. I. Barashkin, I. M. Milshtein, V. D. Moskvina

ORIGINAL ARTICLES | PORCINE DISEASES

- 197** Immune status improvement in piglets through the use of interferon-containing products during specific prevention of porcine pleuropneumonia
A. G. Shakhov, L. Yu. Sashnina, V. A. Prokulevich, Yu. Yu. Vladimirova, M. I. Adodina

- 203** Biological properties of swine vesicular disease virus strain 2348 Italy/2008
Ye. N. Kalinina, S. N. Fomina

- 209** Comparative study of PCR test kits for ASFV DNA detection
M. S. Krasnikova, S. P. Yatsentyuk, M. B. Bryusova, A. D. Kozlova, M. A. Gergel

- 216** Effect of pig serum storage conditions on detection of anti-ASFV antibodies by ELISA
A. R. Shotin, I. Yu. Zhukov, A. S. Pershin, Ali Mazloum, I. V. Shevchenko, A. S. Igoikin, O. A. Manuylova, K. N. Gruzdev

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

- 224** Comparative testing of vaccines based on viruses of genetic lineages G1 and Y280 for their potency against low pathogenic avian influenza H9N2
S. V. Frolov, L. O. Scherbakova, N. V. Moroz, V. N. Irza, V. Yu. Kulakov

ORIGINAL ARTICLES | BIOTECHNOLOGY

- 230** Studies of biological properties of continuous suspension BHK-21/SUSP/ARRIAH cell line
M. I. Doronin, M. N. Guseva, D. V. Mikhailishin, A. S. Sharypov, N. S. Mudrak, N. Ye. Kamalova, B. L. Manin

ORIGINAL ARTICLES | GENERAL ISSUES

- 239** Nutrient digestibility of fishmeal rations in primates
N. V. Gaponov, L. N. Gamko

- 243** Preparation and transfer of *Burkholderia mallei* production strain 5584 in accordance with the biosafety requirements
E. A. Artemeva, L. A. Melnikova, A. P. Rodionov

- 248** Reparative histogenesis of bone tissue in femoral fractures in rats using biocomposite material along with immunocorrection
V. V. Reshetnyak, V. V. Burdeyniy, V. V. Pronin, Ye. A. Iskaliev

- 254** Analysis of Veterinary and Sanitary Inspection in Russian Federation Subjects
A. M. Selyanin, M. A. Shibayev, A. V. Belchikhina, A. K. Karaulov



Аспирантуре федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр охраны здоровья животных» – 60 лет

Т. В. Жбанова¹, Т. Б. Никешина², Н. А. Перевозчикова³, Н. А. Марова⁴

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

¹ ORCID 0000-0002-9857-5915, e-mail: zhbanoval@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-0959-5915, e-mail: nikeshina@arriah.ru

³ Scopus Author ID 6603578671, e-mail: perevozchikoval@arriah.ru

⁴ e-mail: maroval@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

При создании в 1958 г. Всесоюзного научно-исследовательского ящурного института (ВНИИЯ) был организован активный поиск с целью привлечения в штат организации профильных специалистов и научных сотрудников. На заре своего становления ВНИИЯ комплектовался главным образом за счет выпускников Московской ветеринарной академии имени К. И. Скрябина, а также из ветеринарных институтов Харькова, Ленинграда, Витебска. Позже во ВНИИЯ прибыли выпускники Горьковского университета, Казанского и Ивановского ветеринарных институтов, Владимирского педагогического института и многих других. В 1963 г. во ВНИИЯ начали подготовку научных сотрудников через аспирантуру и соискательство. Ведущим ученым организации решением Высшей аттестационной комиссии СССР было разрешено научное руководство аспирантами. С 1976 г. начал работу специализированный совет по защите кандидатских диссертаций, а с 1996 г. – диссертаций на соискание ученой степени доктора наук. В состав кандидатского специализированного совета вошли доктора и кандидаты наук, сотрудники ВНИИЯ, а также доктора наук из покровского ВНИИВВиМ (Н. И. Архипов, И. Ф. Вишняков, В. М. Колосов, Н. А. Лагуткин, Ю. И. Петров, Г. А. Сафонов, Г. Г. Юрков). В 1996 г. диссертационный совет был расширен и для работы в его составе были приглашены авторитетные ученые: доктора наук из ВНИИВВиМ (Е. М. Хрипунов, М. А. Дымин), сотрудники ВГНКИ (К. Н. Груздев, А. Н. Панин, В. И. Уласов, К. В. Шумилов), сотрудники Департамента ветеринарии МСХ РФ (О. И. Сухарев) и Российского университета дружбы народов (В. В. Макаров). В данной статье представлены краткие сведения о подготовке научных кадров для научных и производственных лабораторий института, о работе аспирантуры, системе соискательства, диссертационном совете по защите докторских и кандидатских диссертаций.

Ключевые слова: обзор, ВНИИЯ, ФГБУ «ВНИИЗЖ», аспирантура, диссертационный совет

Для цитирования: Жбанова Т. В., Никешина Т. Б., Перевозчикова Н. А., Марова Н. А. Аспирантуре федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный центр охраны здоровья животных» – 60 лет. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 178–183. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-178-183.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Жбанова Татьяна Валентиновна, кандидат биологических наук, заведующий сектором научных кадров отдела образования и научно-методической работы ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: zhbanoval@arriah.ru.

60th Anniversary of Postgraduate School of Federal State-Financed Institution “Federal Centre for Animal Health”

T. V. Zhbanoval, T. B. Nikeshina², N. A. Perevozchikoval, N. A. Maroval⁴

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

¹ ORCID 0000-0002-9857-5915, e-mail: zhbanoval@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-0959-5915, e-mail: nikeshina@arriah.ru

³ Scopus Author ID 6603578671, e-mail: perevozchikoval@arriah.ru

⁴ e-mail: maroval@arriah.ru

SUMMARY

When the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute was founded in 1958, an active search for relevant specialists and researchers was organized with a view to recruiting them as staff members. In the early days of its establishment, the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute was mainly stuffed with the graduates of the Moscow Academy of Veterinary Medicine named after K. I. Skryabin and the Kharkov, Leningrad, Vitebsk Institutes of Veterinary Medicine. Later they were joined by the graduates of the University of Gorky, the Kazan and Ivanovo Institutes of Veterinary Medicine, the Vladimir Pedagogical Institute

and many others. In 1963, the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute began to train research workers through postgraduate training programmes and thesis-based programmes. The leading scientists of the Institute were authorized by a decision of the Higher Attestation Commission of the USSR to provide academic supervision to postgraduate students. A specialized council for thesis defense started its activities in regard to Candidate of Science thesis defense in 1976 and in regard to Doctor of Science thesis defense – in 1996. The specialized council for Candidate of Science thesis defense comprised Candidates and Doctors of Sciences, staff members of the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute, as well as Doctors of Sciences from the All-Russian Research Institute of Veterinary Virology and Microbiology (VNIIViM) (N. I. Arkhipov, I. F. Vishnyakov, V. M. Kolosov, N. A. Lagutkin, Yu. I. Petrov, G. A. Safonov, G. G. Yurkov). In 1996, the specialized council for Candidate of Science thesis defense was enlarged, and the following reputable scientists were invited to participate in its activities as its members: two Doctors of Sciences from the VNIIViM (Ye. M. Khripunov, M. A. Dymin), four staff members of the VGNKI (K. N. Gruzdev, A. N. Panin, V. I. Ulasov, K. V. Shumilov), the staff members of the Veterinary Department of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation (O. I. Sukharev) and the Peoples' Friendship University of Russia (V. V. Makarov). The paper provides brief information on the training of scientific personnel for research and production laboratories of the institution, postgraduate school activities, thesis-based programmes, the council for Doctor of Science and Candidate of Science thesis defense.

Keywords: review, All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute, FGBI "ARRIAH", postgraduate school, thesis council

For citation: Zhanova T. V., Nikeshina T. B., Perevozchikova N. A., Marova N. A. 60th Anniversary of Postgraduate School of Federal State-Financed Institution "Federal Centre for Animal Health". *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 178–183. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-178-183.

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

For correspondence: Tatyana V. Zhanova, Candidate of Science (Biology), Head of Scientific Personnel Sector, Head of Department of Education and Scientific and Methodical Work, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: zhanova@arriah.ru.

История создания аспирантуры в ФГБУ «ВНИИЗЖ» уходит в далекие шестидесятые годы прошлого века. Приказом Министра сельского хозяйства СССР В. В. Мацкевича «О мероприятиях по усилению научно-исследовательских работ в области вирусологии» от 20 августа 1958 г. № 233-13 был создан Всесоюзный научно-исследовательский ящурный институт (ВНИИЯИ). Главная и единственная задача, которая стояла перед учреждением в то время, – это изучение строения и свойств вируса ящура, разработка методов диагностики и профилактики данного заболевания.

В течение нескольких лет был сформирован научный коллектив, проведено обучение сотрудников и начаты научные исследования. Директору института Владиславу Петровичу Онуфриеву было направлено письмо заместителя начальника Управления научно-исследовательских учреждений Е. Меркулова, в котором сообщалось, что приказом по Министерству высшего и среднего специального образования СССР от 1 апреля 1961 г. № 113 во ВНИИЯИ учреждена аспирантура для подготовки научных работников [1–3].

Министерством в 1964 г. был установлен план приема в аспирантуру ВНИИЯИ с отрывом от производства в количестве 3 человек с рекомендацией проводить прием в соответствии с «Положением об аспирантуре при высших учебных заведениях и научно-исследовательских учреждениях» и приказом Министерства высшего и среднего специального образования СССР «О единых формах документов по подготовке научных и научно-педагогических кадров» от 5 февраля 1963 г. № 50.

Первым аспирантом без отрыва от производства была зачислена Тамара Ефимовна Калугина, научным руководителем которой был утвержден директор института кандидат ветеринарных наук В. П. Онуфриев, он же позднее стал научным руководителем первых аспирантов очного обучения Виктора Николаевича Коропова и Марии Семеновны Фоминой [1, 4, 5].

В 1964 г. аспирантура пополнилась очниками А. В. Есионовым, Э. Ф. Токарик, Л. Н. Соколовым и В. Н. Куз-

нецовым [1, 2]. В 1965 г. на очное отделение поступило еще четыре сотрудника: Т. А. Сатина, Н. А. Пронина, М. А. Муляр и А. А. Кравченко. Темой диссертационных исследований аспирантов было изучение свойств вируса ящура, разработка средств и методов диагностики и профилактики заболевания, а также создание научно обоснованной системы мер, обеспечивающей создание устойчивого благополучия по ящуру в стране.

В следующем году (1966) в аспирантуру были зачислены: И. А. Пронин, Н. С. Маслова, Ю. А. Черняев, С. С. Рыбаков, Е. Л. Щедрин, Н. М. Урванцев, Н. И. Ефимов, В. М. Кравченко, С. В. Кузнецова, Ю. Т. Киселев. Еще одним аспирантом был Валерий Михайлович Захаров, окончивший Московскую ветеринарную академию имени К. И. Скрябина. В настоящее время Валерий Михайлович – доктор ветеринарных наук, профессор, заслуженный ветеринарный врач Российской Федерации – является экспертом МЭБ по ящуру для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья и читает лекции аспирантам.

В последующие годы еще много выпускников московской академии и других профильных вузов пришли в аспирантуру. Это они своими знаниями, упорством и любознательностью смогли победить особо опасное заболевание и освободить территорию страны от ящура.

Первую докторскую диссертацию в 1964 г. защитил в г. Покрове заведующий лабораторией сушки биопрепаратов Евгений Евлампиевич Никитин (по материалам выполненной во ВНИИВВиМ работы). В 1967 г. докторскую диссертацию в Ленинградском ветеринарном институте защитил заведующий лабораторией патоморфологии Анатолий Михайлович Рахманов (по материалам, подготовленным в период прохождения докторантуры в Семипалатинском зооветеринарном институте). В 1969 г. в Казанском ветеринарном институте защитил докторскую диссертацию по иммунологии ящура директор института Владислав Петрович Онуфриев, в 1970 г. в Ленинградском ветеринарном



Рис. 1. Выступление директора ВНИИИ В. П. Онуфриева на координационном совещании по ящуру, 1965 г. (фото из архива ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Fig. 1. Director of the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute V. P. Onufriyev delivering a speech at the coordination meeting on FMD, 1965 (a photo from the FGBI "ARRIAH" archive)

институте по ультраструктуре и свойствам вируса ящура – Василий Лаврентьевич Узюмов [5].

В первые годы работы аспирантуры право на научное руководство аспирантами имели доктора наук и профессора, но в виде исключения и кандидаты наук, получая на это разрешение Министерства высшего и среднего специального образования СССР. Такие разрешения имели В. П. Онуфриев, Е. Е. Никитин, А. П. Простяков, Е. В. Андреев, А. И. Собко и В. Л. Узюмов [4–7].

В последующие годы право на научное руководство аспирантами по приказу директора института без согласования с Высшей аттестационной комиссией (ВАК) получили кандидаты наук: Н. Н. Дрягалин, В. М. Хухоров, В. М. Кравченко, Е. А. Краснобаев, В. К. Муравьев, А. С. Оковытый, В. Н. Коропов, В. И. Шоршнев, Г. А. Худяков, В. Г. Андреев, С. С. Рыбаков, Н. А. Перевозчикова, В. М. Захаров, С. К. Старов, Т. А. Фомина, В. Н. Ирза, А. В. Щербakov, А. В. Борисов, В. В. Борисов, Ш. К. Куляшбекова, В. А. Мищенко, В. В. Дрыгин, Т. З. Байбиков, В. И. Диев [5, 8].

Всего с 1963 г. аспирантскую подготовку прошли более 300 человек.

В институте в течение многих лет плодотворно работали и передавали свой неоценимый опыт молодому поколению лауреаты Государственной премии РФ в области науки и техники – член-корреспондент РАСХН, профессор Анатолий Алексеевич Гусев [5], доктора ветеринарных наук, профессора Андрей Иванович Дудников и Жорж Антонович Шажко; заслуженные деятели науки РФ, профессора – Василий Лаврентьевич Узюмов, Анатолий Михайлович Рахманов, Юлий Александрович Черняев, Александр Николаевич Бурдов; заслуженные ветеринарные врачи РФ – Тауфик Закарьевич Байбиков, Людмила

Алексеевна Глобенко, Борис Андреевич Глушко, Елена Валентиновна Гусева, Владимир Васильевич Дайнарович, Вячеслав Иванович Диев, Николай Николаевич Дрягалин, Валерий Михайлович Захаров, Василий Никифорович Кузнецов, Нина Сергеевна Маслова, Иван Александрович Пронин, Александр Владимирович Борисов, Константин Николаевич Груздев, Виктор Николаевич Герасимов; заслуженный изобретатель РФ, доктор ветеринарных наук, профессор Владимир Александрович Мищенко [1, 7].

Подготовка высококвалифицированных кадров осуществлялась также через курсы повышения квалификации. В начале деятельности учреждения это были в основном курсы по вирусологии, которые проходили на базе Института вирусологии имени Д. И. Ивановского, а затем в Московской ветеринарной академии имени К. И. Скрябина. Многие сотрудники прошли эти стажировки, что позволило в короткие сроки организовать квалифицированное проведение вирусологических работ в институте.

В связи с развитием исследований по молекулярной биологии в стране в 1977 г. при Московском государственном университете (г. Пущино) были организованы «Курсы повышения квалификации и специализации работников в области молекулярной биологии», где в течение 9 месяцев ведущими специалистами в этой области (академиком РАН А. С. Спириным, член-корреспондентом РАСХН и РАН Т. И. Тихоненко, академиком РАН Е. Д. Свердловым и др.) читались лекции и проводились практические занятия на базе Института Академии наук СССР. Обучение на этих курсах за несколько лет прошли и получили дипломы по специальности «молекулярная биология» достаточно большое количество сотрудников: Н. А. Перевозчикова, В. А. Пе-

ревозчиков, С. С. Рыбаков, Т. А. Сатина, Г. И. Кожаева, Г. М. Фалина, О. Н. Окулова и др., что способствовало возможности создания отдела молекулярной биологии в 1983 г. [1].

В последующие годы многие сотрудники проходили стажировки для повышения квалификации в ведущих лабораториях отечественных и зарубежных профильных институтов.

В значительной мере получению опыта и новых знаний способствовало активное участие специалистов ВНИИЯИ в различных отечественных и международных конгрессах, конференциях, совещаниях по профилю деятельности учреждения (рис. 1, 2).

В 1976 г. приказом ВАК СССР ВНИИЯИ получил разрешение на прием к защите кандидатских диссертаций и проведение их защит. Состав специализированного совета по защите кандидатских диссертаций ВАК СССР утвердил по трем специальностям: 03.00.06 Вирусология, 16.00.02 Патология, онкология и морфология животных, 16.00.03 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология и иммунология [5, 8]. Председателем совета был утвержден профессор В. П. Онуфриев [3], его заместителем – профессор В. Л. Узюмов, а научным секретарем – кандидат ветеринарных наук Ю. А. Черняев (рис. 3). В специализированном совете по защите кандидатских диссертаций при ВНИИЯИ была защищена 131 диссертация [2, 5, 7].

В 1996 г. ВАК России утвердил диссертационный совет, которому было предоставлено право принимать к защите докторские и кандидатские диссертации по двум специальностям: 16.00.03 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология и 03.00.06 Вирусология [6, 7].

Председателем диссертационного совета был утвержден профессор А. А. Гусев, его заместителем – профессор Ю. А. Черняев, а в 1999 г. – профессор Н. А. Перевозчикова. Учеными секретарями диссертационного совета были: профессор В. Л. Узюмов, кандидат биологических наук Г. М. Семенова, доктор ветеринарных наук В. С. Русалеев, доктор биологических наук А. П. Пономарев, кандидат биологических наук Т. В. Жбанова. Председателями диссертационного совета в разные годы были: доктор ветеринарных наук В. М. Захаров, доктор ветеринарных наук В. С. Русалеев, доктор биологических наук Н. А. Перевозчикова, доктор ветеринарных наук В. Н. Ирза [1, 6].

Сотрудники института с ученой степенью доктора наук в разные периоды времени работали над научными проектами, осуществляли научное руководство аспирантов, многие из них являлись членами диссертационного совета: В. П. Онуфриев, А. А. Сюсюкин, Е. Е. Никитин, Е. В. Андреев, А. П. Простяков, В. Л. Узюмов, А. М. Рахманов, А. И. Собко, А. Н. Бурдов, И. С. Кучмасов, Ю. А. Черняев, В. Н. Иванющенков, А. А. Гусев, А. И. Дудников, Ж. А. Шажко, Т. З. Байбиков, А. В. Бочарников, Н. А. Улупов, А. А. Дороговцев, В. Я. Давыдов, М. В. Котова, В. А. Мищенко, А. В. Борисов, В. В. Борисов, В. Н. Герасимов, Н. С. Мамков, В. И. Диев, Л. А. Глобенко, Ш. К. Куляшбекова, С. С. Рыбаков, А. Ф. Бондаренко, В. В. Дрыгин, А. П. Пономарев, Л. Л. Воейков, А. М. Игонин, Г. А. Худяков [4, 9].

Ведущие ученые ФГБУ «ВНИИЗЖ» участвуют в экзаменационных и аттестационных комиссиях, читают лекции аспирантам и ветеринарным специалистам.

Сорокапятилетний юбилей диссертационный совет при ФГБУ «ВНИИЗЖ» встречает в следующем составе:



Рис. 2. Академик ВАСХНИЛ, Герой Социалистического Труда, профессор, доктор ветеринарных наук И. А. Бакулов во ВНИИЯИ, 1977 г. (фото из архива ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Fig. 2. Member of the All-Union Academy of Agricultural Sciences named after V. I. Lenin (VASKhNIL), Hero of Socialist Labor, Professor, Doctor of Science (Veterinary Medicine) I. A. Bakulov at the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute, 1977 (a photo from the FGBI "ARRIAH" archive)



Рис. 3. Первое заседание диссертационного совета ВНИИЯИ, 1976 г. (фото из архива ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Fig. 3. The first meeting of the Thesis Council of the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute, 1976 (a photo from the FGBI "ARRIAH" archive)

В. Н. Ирза (председатель совета), Н. А. Перевозчикова и Н. С. Мудрак (заместители председателя), Н. Н. Власова, К. Н. Груздев, В. М. Захаров, Н. Е. Камалова, А. Е. Метлин, В. В. Михалишин, В. А. Мищенко, О. В. Прунтова, В. С. Русалеев. За время существования в диссертационном совете защищено 17 докторских и 325 кандидатских диссертаций [1, 10].

Ведущие ученые института входили в состав экспертных советов ВАК СССР и России: в течение 13 лет членом совета был профессор В. Л. Узюмов; в разные годы – директор института член-корреспондент РАСХН, профессор А. А. Гусев, профессора Н. А. Перевозчикова, С. С. Рыбаков, К. Н. Груздев, В. А. Мищенко, А. М. Рахманов, В. С. Русалеев.

При подготовке и оформлении докторских и кандидатских диссертаций соискателям активно помогали сотрудники группы подготовки научных кадров: с 2000 по 2010 г. – Г. М. Семенова, В. Л. Узюмов, В. Н. Гуськова, Е. В. Ельникова, с 2010 г. по настоящее время – заведующий сектором научных кадров Т. В. Жбанова. Большую помощь в организации процесса подготовки аспирантов оказывает доктор биологических наук, профессор Владимир Владимирович Макаров [1].

В состав диссертационного совета кроме ученых ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» входят доктора наук из пяти научных учреждений: ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии», ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ве-

теринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина».

Помимо аспирантуры в институте осуществляется подготовка научных кадров через соискательство. Соискателями могут быть сотрудники, проявившие способности к научно-исследовательской работе. По представлению руководителя лаборатории ученый совет института утверждает соискателям темы диссертационных работ, которые, как правило, согласуются с тематикой научных исследований подразделения. Ученый совет вносит также предложение об утверждении научного руководителя соискателю и устанавливает сроки окончания исследований [7].

В настоящее время в ФГБУ «ВНИИЗЖ» работает 890 сотрудников, в том числе 15 докторов и 122 кандидата наук. Ежегодно ФГБУ «ВНИИЗЖ» объявляет прием в аспирантуру на 8–12 мест. Все аспиранты трудоустроиваются в лаборатории учреждения, имеющие новейшую материально-техническую базу для выполнения диссертационных исследований.

В 2016 г. ФГБУ «ВНИИЗЖ» ввел в эксплуатацию многоквартирный дом для молодых ученых, где предусмотрены условия для проживания и обучения аспирантов.

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») Россельхознадзора объявляет набор в аспирантуру на 2021–2026 гг. по двум направлениям подготовки: 36.06.01 Ветеринария и зоотехния, по специальности научных работников 06.02.02 Ветеринарная микробиология, вирусология, эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология и 06.06.01 Биологические науки, по специальности научных работников 03.02.02 Вирусология, и приглашает молодых специалистов, проявляющих интерес к науке.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Перевозчикова Н. А., Лозовой Д. А., Рахманов А. М. Краткий очерк по истории и основным направлениям деятельности ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (к 60-летию организации). Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2018. 120 с. eLIBRARY ID: 42993098.
2. Рахманов А. М., Узюмов В. Л. К истории организации и деятельности Всесоюзного научно-исследовательского ящурного института. *Ветеринария сегодня*. 2013; 1 (4): 5–7. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_22408254_78727395.pdf.
3. Рахманов А. М., Дудников А. И., Узюмов В. Л. Вклад В. П. Онуфриева в становление и развитие Всесоюзного научно-исследовательского ящурного института (к 80-летию со дня рождения В. П. Онуфриева, 1925–1998). *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2005; 3: 434–445. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_24397212_81549508.pdf.
4. Рахманов А. М., Узюмов В. Л. История ВНИИИ (1958–1992 гг.) и ВНИИЗЖ (1992–2003 гг.). Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ»; 2003. 152 с.
5. Узюмов В. Л., Семенова Г. М. Подготовка научных кадров в ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных». *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2008; 6: 28–34. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_14933075_99888436.pdf.
6. Захаров В. М., Перевозчикова Н. А. На крутом переломе. *Ветеринария сегодня*. 2013; 2 (5): 6–12. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_22408261_62929055.pdf.
7. Белик Е. В., Узюмов В. Л., Рахманов А. М., Борисов В. В. История создания и развития ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных». *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2008; 6: 6–21. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_14933073_52117135.pdf.
8. История Федерального государственного учреждения «Федеральный центр охраны здоровья животных». Под ред. Е. В. Белика. Владимир: ИП Журавлева; 2008. 304 с.
9. Рахманов А. М., Глушко Б. А., Узюмов В. Л. К 60-летию Великой Победы (сотрудники института – участники Великой Отечественной войны 1941–1945 годов). *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2005; 3: 430–433. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_24397211_30180184.pdf.
10. Прохвятилова Л. Б., Перевозчикова Н. А., Рахманов А. М. Основные итоги научно-производственной деятельности ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2013 г. *Ветеринария сегодня*. 2014; 2 (9): 6–11. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_22445529_95206887.pdf.

REFERENCES

1. Perevozchikova N. A., Lozovoy D. A., Rakhmanov A. M. Brief outline of the history and core activities of the FGBI "Federal Centre for Animal Health"

(in commemoration of the 60th anniversary of the institution). Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2018. 120 p. eLIBRARY ID: 42993098. (in Russian)

2. Rakhmanov A. M., Uzyumov V. L. More on the history of establishment and activities of the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute [K istorii organizatsii i deyatel'nosti Vsesoyuznogo nauchno-issledovatel'skogo yashchurnogo instituta]. *Veterinary Science Today*. 2013; 1 (4): 5–7. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_22408254_78727395.pdf. (in Russian)

3. Rakhmanov A. M., Dudnikov A. I., Uzyumov V. I. Contribution of V. P. Onufriev to the strengthening and development of the All-Union Foot and Mouth Disease Research Institute (to the 80th birthday anniversary of V. P. Onufriev, 1925–1998). *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2005; 3: 434–445. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_24397212_81549508.pdf. (in Russian)

4. Rakhmanov A. M., Uzyumov V. L. History of the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute (1958–1992) and the ARRIAH (1992–2003). Vladimir: FGI "ARRIAH"; 2003. 152 p. (in Russian)

5. Uzyumov V. L., Semyonova G. M. Training of scientific personnel in the FGI "Federal Centre for Animal Health". *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2008; 6: 28–34. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_14933075_99888436.pdf. (in Russian)

6. Zakharov V. M., Perevozchikova N. A. At a turning point [Na krutom perelome]. *Veterinary Science Today*. 2013; 2 (5): 6–12. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_22408261_62929055.pdf. (in Russian)

7. Belik Ye. V., Uzyumov V. L., Rakhmanov A. M., Borisov V. V. History of the FGI "Federal Centre for Animal Health" foundation and development. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2008; 6: 6–21. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_14933073_52117135.pdf. (in Russian)

8. History of the Federal State-Financed Institution "Federal Centre for Animal Health". Ed. by Ye. V. Belik. Vladimir: IP Zhuravleva; 2008. 304 p. (in Russian)

9. Rakhmanov A. M., Glushko B. A., Uzyumov V. L. In commemoration of the 60th Anniversary of the Great Victory (employees of the institute, who took part in the Great Patriotic War of 1941–1945). *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2005; 3: 430–433. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_24397211_30180184.pdf. (in Russian)

10. Prokhvatilova L. B., Perevozchikova N. A., Rakhmanov A. M. Summary of scientific and manufacturing activities of the FGBI "ARRIAH" in 2013. *Veterinary Science Today*. 2014; 2 (9): 6–11. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_22445529_95206887.pdf. (in Russian)

Поступила 02.07.2021

Принята в печать 30.07.2021

Received on 02.07.2021

Approved for publication on 30.07.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Жбанова Татьяна Валентиновна, кандидат биологических наук, заведующий сектором научных кадров отдела образования и научно-методической работы, ученый секретарь диссертационного совета ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Никешина Татьяна Борисовна, кандидат биологических наук, начальник отдела образования и научно-методической работы ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Перевозчикова Наталья Александровна, доктор биологических наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Марова Надежда Алексеевна, сотрудник научной библиотеки ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Tatyana V. Zhanova, Candidate of Science (Biology), Head of Scientific Personnel Sector, Department of Education and Scientific and Methodical Work, Academic Secretary of Thesis Council, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Tatiana B. Nikeshina, Candidate of Science (Biology), Head of Department of Education and Scientific and Methodical Work, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Nataliya A. Perevozchikova, Doctor of Science (Biology), Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Nadezhda A. Marova, Science Library Staff Member, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.



Метаболические заболевания крупного рогатого скота

В. А. Мищенко¹, А. В. Мищенко², Р. В. Яшин³, В. А. Евграфова⁴, Т. Б. Никешина⁵

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

¹ ORCID 0000-0003-3751-2168, e-mail: mishenko@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-9752-6337, e-mail: mischenko@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-1385-705X, e-mail: yashin@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0003-3053-6976, e-mail: evgrafova@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0002-0959-5915, e-mail: nikeshina@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Основная тенденция развития молочного животноводства в Российской Федерации предусматривает увеличение продуктивности коров молочных пород и снижение себестоимости молока. Экономическая эффективность промышленного молочного животноводства во многом определяется полноценным кормлением, эффективной системой мероприятий по обеспечению здоровья животных и профилактике инфекционных и массовых незаразных болезней. Главной причиной преждевременного выбытия высокопродуктивных коров являются факторы, присущие используемым в молочном скотоводстве интенсивным технологиям, приводящим к возникновению метаболических заболеваний. Установлено, что интенсивность обмена веществ имеет прямую связь с высокой продуктивностью животных. При высококонцентратном, в основном силосно-концентратном, типе кормления часто регистрируется дисбаланс питательных веществ, особенно по сахаро-протеиновому отношению, что приводит к возникновению глубоких нарушений обмена веществ и развитию иммунодефицитных состояний. Метаболические нарушения у высокопродуктивных коров возникают на фоне рационов, несбалансированных по белку, углеводам, витаминам и минеральным веществам. У больных коров и нетелей регистрируются ацидоз, руминит и гепатоз. У 70–75% коров сервис-период превышает 100 дней. У телят, полученных от коров с признаками глубоких нарушений обмена веществ, часто регистрируется гепатоз и иммунодефицитное состояние. Нарушения обмена веществ часто остаются незамеченными и становятся очевидными лишь при ярко выраженных патологических изменениях, которые приводят к снижению продуктивности и способности воспроизведения резистентного молодняка, выбраковке животных. При обследовании коров в крупных молочных животноводческих хозяйствах метаболические заболевания были зарегистрированы у 30–70% животных. В России средняя продолжительность хозяйственного использования высокопродуктивных коров составляет $(2,1 \pm 0,15)$ лактаций. Как показали результаты эпизоотологических исследований и данные лабораторных исследований проб сывороток крови, при иммунизации крупного рогатого скота с иммунодефицитным состоянием эмульсионные инактивированные вакцины индуцируют в организме образование вирусспецифических антител в более высоких титрах, чем у животных, привитых сорбированными препаратами.

Ключевые слова: обзор, крупный рогатый скот, метаболические заболевания, нарушения обмена веществ, клетчатка, ацидоз, дистрофия печени, биогеохимические зоны, метаболический иммунодефицит, гипомикроэлементозы, рубец, высококонцентратное кормление, эмульсионные инактивированные противовирусные вакцины, биогеохимические провинции

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

Для цитирования: Мищенко В. А., Мищенко А. В., Яшин Р. В., Евграфова В. А., Никешина Т. Б. Метаболические заболевания крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 184–189. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-184-189.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Мищенко Владимир Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: mishenko@arriah.ru.

Metabolic diseases in cattle

V. A. Mischenko¹, A. V. Mischenko², R. V. Yashin³, V. A. Yevgrafova⁴, T. B. Nikeshina⁵

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

¹ ORCID 0000-0003-3751-2168, e-mail: mishenko@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-9752-6337, e-mail: mischenko@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-1385-705X, e-mail: yashin@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0003-3053-6976, e-mail: evgrafova@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0002-0959-5915, e-mail: nikeshina@arriah.ru

SUMMARY

The main trend in the development of dairy farming in the Russian Federation suggests maximising milk yield and reducing milk net cost. The economic effectiveness of industrial dairy farming is largely determined by adequate feeding, as well as effective system of measures to ensure animal health and prevent infectious and

non-infectious mass diseases. The main reason for the premature retirement of highly productive cows is based on the factors typical of the intensive technologies used in dairy cattle breeding, which lead to the occurrence of metabolic diseases. It is established that the intensity of metabolism is directly linked to the high productivity of cows. With a highly concentrated, mainly silage-based type of feeding, an imbalance of nutrients is often recorded, in particular as regards the sugar/protein ratio, leading to deep metabolic disorders and the development of immunodeficiency states. Metabolic disorders in highly productive cows occur as a result of unbalanced diets as far as protein, carbohydrates, vitamins and minerals are concerned. Acidosis, ruminitis and hepatosis are recorded in disordered cows and heifers. The service period exceeds 100 days in 70–75% of cows. Hepatosis and immunodeficiency states are often found in calves born to cows with signs of deep metabolic disorders. Metabolic disorders often remain unnoticed and become apparent only when pronounced pathological changes occur resulting in decreased productivity and ability to reproduce resistant young animals, as well as culling of animals. Metabolic diseases were recorded in 30–70% of cows examined in large dairy farms. The average lifetime productivity of high-yielding cows is (2.1 ± 0.15) lactations in Russia. The results of epidemiological investigations and laboratory testing of sera samples showed that emulsion inactivated vaccines administered to immunodeficient cattle induce higher titres of virus-specific antibodies than those in animals vaccinated with adsorbed vaccines.

Keywords: review, cattle, metabolic diseases, metabolic disorders, fiber, acidosis, liver dystrophy, biogeochemical zones, metabolic immunodeficiency, hypomicroelementoses, rumen, high-concentration feeding, emulsion inactivated antiviral vaccines, biogeochemical provinces

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

For citation: Mischenko V. A., Mischenko A. V., Yashin R. V., Yevgrafova V. A., Nikeshina T. B. Metabolic diseases in cattle. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 184–189. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-184-189.

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

For correspondence: Vladimir A. Mischenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, Laboratory for Porcine and Horned Livestock Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: mishenko@arriah.ru.

Рентабельность промышленного молочного животноводства обеспечивают три основных фактора: генетический потенциал, полноценное кормление и благополучие по инфекционным (в том числе и трансграничным) и массовым незаразным заболеваниям. Реализация генетического потенциала высокопродуктивных коров обусловлена интенсивным течением обменных процессов и напряженной нейрогуморальной регуляцией. В современных условиях промышленной технологии содержания животных и односторонней селекции на продуктивность особо выделяют проблему нарушений обмена веществ [1–4]. Рационы кормления балансируют по всем питательным веществам, строго соблюдая сахаро-протеиновое отношение и обеспеченность переваримым протеином (100–110 г) на одну кормовую единицу [3, 5–8]. Повышение продуктивности коров является одним из основных факторов, способствующих снижению резистентности и, как следствие, более высокой восприимчивости животных к инфекциям.

Эволюционно сложившийся процесс пищеварения коров направлен на переваривание большого количества грубых кормов, основу которых составляет клетчатка, необходимая для размножения целлюлозолитических бактерий, являющихся звеном рубцового пищеварения [5, 9, 10]. Для получения высоких надоев молока используют высококонцентратный тип кормления коров. Во многих хозяйствах количество скармливаемых грубых кормов в 2,1–3,0 раза ниже рекомендуемой нормы. Как правило, в таких рационах мало легкоусвояемых углеводов, что приводит к нарушению сахаро-протеинового отношения [4–6, 11]. Низкое качество скармливаемых концентрированных кормов, даже при больших объемах, не позволяет обеспечить синтез достаточного количества глюкозы.

При концентратном типе кормления крахмал зерновых используется амилотической микрофлорой

рубца для синтеза летучих жирных кислот, основной из которых является молочная кислота. При оптимальных соотношениях молочная кислота перерабатывается рубцовой микрофлорой в пропионовую кислоту, служащую основным источником для синтеза глюкозы и гликогена в печени. При избытке в рационе белка и недостатке углеводов в рубце образуется большое количество аммиака, что тормозит синтез пропионовой кислоты [7, 8].

Защеление содержимого рубца (рН 5,5) приводит к значительному превышению уровня летучих жирных кислот в крови и возникновению метаболического ацидоза, развитие которого является основным патогенетическим механизмом дистрофии печени и почек, а также других патологий [4, 8, 10–22]. Перевод животных на концентрированные корма приводит к изменению состава рубцовой микрофлоры [4, 5, 15, 23]. При кормлении чрезмерным количеством концентратов тормозится жизнедеятельность микроорганизмов рубца, что в последующем приводит к развитию жировой инфильтрации печени [1, 11, 24]. При ацидозе рубца усиливается размножение амилотических и молочнокислых бактерий, что приводит к подавлению роста пропионовокислых и целлюлозолитических микроорганизмов [12, 13, 25]. Используемый высококонцентратный тип кормления, дисбаланс питательных веществ, стрессы, гиподинамия, отсутствие инсоляции лежат в основе глубоких нарушений обмена веществ, развития иммунодефицитных состояний [3, 9, 11–13, 17, 21, 26].

Интенсивность обмена веществ имеет прямую связь с продуктивностью животных. Так, у высокопродуктивных коров длительное время регистрируется дефицит энергетических и пластических веществ, который компенсируется посредством распада веществ собственного организма. В период стельности и биосинтеза молока в первые 2–3 недели после отела потребность в энергии у коров увеличивается в 3 раза [3, 4, 27]. Такие коровы

способны с высоким коэффициентом трансформировать обменную энергию рациона и питательные вещества кормов в молоко, затраты на единицу их продукции низкие, животные отличаются высокой интенсивностью обмена веществ, что приводит к снижению их иммунобиологического статуса даже при незначительных нарушениях в кормлении и содержании. У этих животных существенно снижены возможности приспособления к изменяющимся условиям внешней среды и защиты от различных воздействий [1, 6, 11, 13, 17, 23, 28, 29]. Поэтому здоровье высокопродуктивных животных напрямую зависит от количества микроэлементов, поступающих в их организм [4].

Нарушения обмена веществ являются основным патогенетическим механизмом развития метаболического ацидоза рубца и метаболических иммунодефицитов у высокоудойных коров, которые испытывают энергетическое напряжение [12, 14, 17–21, 29, 30]. Считается, что одной из причин развития метаболического ацидоза является дефицит сахаров в рационах кормления коров. Установлено, что метаболические нарушения у стельных коров отрицательно влияют на внутриутробное развитие плода и качество молозива. У телят, полученных от коров с признаками нарушения обмена веществ, регистрируются дистрофия печени, почек, селезенки и лимфоузлов [25, 31]. Наблюдаемые повышения активности наиболее специфичных для клеток печени ферментов (аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы) происходят в результате преобладания в данном органе катаболических процессов из-за дистрофических изменений в его ткани [1, 7, 9–11, 24]. Результаты эпизоотологического исследования животноводческих хозяйств свидетельствуют о том, что метаболические нарушения у высокопродуктивных коров регистрируются постоянно. Пик таких нарушений у животных приходится на первые месяцы после отела, при этом у разных пород они имеют отличия [9–12].

От несбалансированного кормления чаще всего страдают коровы высокоудойных пород (голштинофризской и др.), имеющие ускоренный обмен веществ и тонкую нейрогуморальную систему. Причина того, что высокопродуктивный крупный рогатый скот чаще страдает от нарушения обмена веществ, чем животные со средней продуктивностью, кроется в биологических факторах и зависит от быстрого преобразования энергии питания в молоко. Подобный принцип синтеза молока требует высококачественных кормов, правильных условий содержания и постоянный зоотехнический контроль. Обилие концентратов приводит к патологиям рубцового пищеварения (гиперкератозы и мукозы), дистрофии печени и угасанию функций яичников, ожирению и снижению продуктивности [3, 22, 24].

В зоне риска находятся новотельные первотелки, организм которых должен найти энергию для синтеза молока и собственного продолжающегося роста. При недостатке в рационе легкоусвояемых углеводов в рубце повышается уровень летучих жирных кислот, при этом увеличивается концентрация масляной кислоты и уменьшается содержание уксусной и пропионовой кислот. В случае недостатка энергии в крови животного содержится мало глюкозы и пропионовой кислоты, что приводит к развитию кетогенных процессов и гипогликемии [27], которая часто диагностируется при преимущественно концентратном типе кормления и введении в рацион коров кислых кормов [6, 7, 14–16, 22, 32].

Дистрофия печени у высокопродуктивных коров – одно из самых опасных заболеваний, при хроническом микроэлементозе приводит к гибели животного [3, 7, 8, 12, 15, 22, 33]. При дефиците или снижении поступления жизненно необходимых микро- и макроэлементов с кормами в организме животных возникает хронический комплексный гипомикроэлементоз, проявляющийся снижением всех видов продуктивности и приводящий к развитию вторичных иммунодефицитных состояний [12, 22, 33]. У животных при дефиците или избытке таких элементов, как кобальт, медь, цинк, кальций, замедляется жвачка, пропадает или извращается аппетит, утолщаются суставы. При недостатке в кормах щелочных (кальций, натрий, магний и др.) и избыточного содержания кислых элементов (хлор, фосфор, сера и др.) сдвигается кислотно-щелочное равновесие крови в сторону ацидоза, что снижает резервную щелочность крови и общую резистентность [11, 16, 33].

Сотрудниками Алтайского государственного аграрного университета было проведено изучение особенности клинико-биохимического проявления нарушений обмена веществ у высокопродуктивных коров в биогеохимической провинции своего региона. Установлено, что в почвах этой зоны существует дефицит йода, кобальта, марганца, меди, цинка и молибдена. В результате проведенных исследований метаболические заболевания были выявлены у 30% обследованных животных, при этом нарушение обмена регистрировали не только у коров, но и рожденных от них телят [33]. Данные отклонения особенно остро проявляются в биохимических провинциях, где наблюдается значительный дисбаланс содержания макро- и микроэлементов в цепочке «почва – растение (корма)» [29, 33]. Как показывают результаты многолетних клинических наблюдений и биохимических исследований, проведенных в хозяйствах Ленинградской области, нарушения обмена веществ (метаболические заболевания) регистрируются у 62% коров с удоем 25–35 кг молока в сутки в первые 2–3 мес. лактации после отела [34].

Дефицитное содержание минеральных веществ (медь, цинк, кобальт) в почвах сельскохозяйственного использования является первичным звеном этиопатогенеза в биогеоценотической цепи и выступает ведущим фактором развития нарушения минерального обмена веществ у сельскохозяйственных животных. В конечном звене биогеоценотической цепи на уровне «мать – потомство» регистрируют микроэлементозы алиментарного происхождения, что приводит к развитию иммунодепрессивного состояния и возникновению вторичных иммунодефицитов [2, 4].

При эпизоотологических расследованиях, проведенных в специализирующихся на промышленном производстве молока животноводческих хозяйствах разных субъектов Российской Федерации, было установлено, что основной причиной гибели новорожденных телят являлись диареи, чаще всего вызванные ротавирусом, коронавирусом и вирусом вирусной диареи крупного рогатого скота. Были отмечены случаи циркулирования на одном и том же поголовье животных двух или трех указанных возбудителей. В обследованных хозяйствах документально подтверждены факты проведенной вакцинации глубокостельных коров и нетелей против указанных заболеваний. Известно, что в период внутриутробного развития плода у крупного рогатого скота отсутствует пассивная (трансплацентарная) пере-

дача материнских антител, поэтому теленок рождается незащищенным от патогенов и, попадая в новую для него среду, не имеет клеточной и гуморальной специфической защиты. Единственным средством защиты новорожденного теленка является молозиво, полученное от иммунной матери [23, 32].

Нарушение обмена веществ и иммунодефицитное состояние коров являются одной из основных причин низкой эффективности вакцинопрофилактики инфекционных заболеваний, что приводит к преждевременному выбытию животных [22, 32]. При выяснении причин низкой полевой эффективности использованных вакцин производили отбор проб крови от вакцинированных коров и нетелей за 10–15 дней до отела и от 2–5-суточных телят, полученных от иммунизированных животных. Наряду с этим на 1–3-й день после отела были отобраны пробы молозива.

Полученные результаты исследований послужили основанием для разработки новых средств специфической профилактики вирусных заболеваний крупного рогатого скота с иммунодефицитным состоянием. Для иммунизации животных с признаками метаболического иммунодефицита в ФГБУ «ВНИИЗЖ» были разработаны эмульсионные инактивированные моно-, би- и поливалентные вакцины против ротавирусной и коронавирусной инфекций, вирусной диареи, парагриппа-3 и инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота.

При проведении серии производственных испытаний в крупных промышленных молочных комплексах в 16 субъектах Российской Федерации было установлено, что разработанные эмульсионные инактивированные вакцины индуцируют в организме высокопродуктивных коров с признаками метаболического иммунодефицита образование вирусспецифических к ротавирусу, коронавирусу и вирусу вирусной диареи антител в высоких титрах. В молозиве коров антитела к указанным возбудителям обнаруживали в титрах ($11,3 \pm 0,8$ – $12,6 \pm 0,9$) \log_2 . В сыворотках крови 3–7-суточных телят, своевременно получавших молозиво от иммунизированных эмульсионной вакциной коров, обнаруживали антитела к ротавирусу, коронавирусу и возбудителю вирусной диареи в титрах ($8,5 \pm 0,6$ – $9,7 \pm 0,8$) \log_2 [32]. Эмульсионные препараты пригодны для вакцинации новорожденных телят с колостральным иммунитетом. Применение эмульсионных инактивированных вакцин против парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита, коронавирусной инфекции и вирусной диареи крупного рогатого скота в различных вариациях позволило снизить заболеваемость молодняка на 30–50%, а выбытие – на 15–25%. Результаты эпизоотологических исследований и данные лабораторных исследований проб сывороток крови явились основанием для рекомендации использования эмульсионных вакцин при иммунизации крупного рогатого скота с иммунодефицитным состоянием [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты эпизоотологических исследований, проведенных в специализирующихся на производстве молока крупных животноводческих хозяйствах, свидетельствуют, что средний срок эксплуатации высокопродуктивных коров с удоем более 6 тыс. кг молока не превышает трех лактаций. Избыток концентрирован-

ных кормов в сочетании с дефицитом сахара и грубых кормов приводит к нарушениям пищеварения и обмена веществ, накоплению токсических веществ [3]. Интенсивные нарушения обмена веществ являются основным патогенетическим механизмом метаболических заболеваний, приводящих к развитию ацидоза, дистрофии печени и метаболического иммунодефицита [3, 9, 10, 12, 13, 34]. От стельных коров с нарушением метаболических процессов рождаются телята с дистрофией печени, почек, селезенки и лимфоузлов. У животных с признаками метаболического иммунодефицита часто регистрируют заболевания, вызванные условно-патогенными микроорганизмами. Показано, что эмульсионные инактивированные вакцины индуцируют в организме высокопродуктивных коров с признаками метаболических нарушений образование вирусспецифических антител в более высоких титрах, чем у животных, привитых сорбированными препаратами, что можно объяснить особенностью иммуногенеза при использовании указанных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жуков И. В., Ушкова А. А. Анализ биохимического состояния крупного рогатого скота импортной селекции. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*. 2014; 4: 118–121. DOI: 10.20914/2310-1202-2014-4-118-121.
2. Кочнев Н. Н. Влияние технологических факторов на биохимический статус молочных коров. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2012; 2 (225): 39–45. eLIBRARY ID: 17729501.
3. Мищенко В. А., Турнаев С. Н. Проблемы обеспечения здоровья коров в промышленном животноводстве: реалии, причины их вызывающие и предлагаемые решения. *Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов: сборник докладов Международной научно-практической конференции (8–9 сентября 2020 г.)*. Курск: ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр»; 2020; 28–34. DOI: 10.18411/isbn978-5-907167-82-7.
4. Конвай В. Д., Заболотных М. В. Метаболические нарушения у высокопродуктивных коров. *Вестник Омского ГАУ*. 2017; 3 (27): 130–136. eLIBRARY ID: 30467978.
5. Петрянкин Ф. П., Лаврентьев А. Ю., Шерне В. С. Влияние кормления на иммунный статус организма животных (научный обзор). *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2018; 3: 41–46. eLIBRARY ID: 36759628.
6. Евглевский А. А., Турнаев С. Н., Тарасов В. Ю., Лебедев А. Ф., Швец О. М., Евглевская Е. П. Проблемы обеспечения здоровья высокопродуктивных коров в промышленном животноводстве и практические пути их решения. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017; 4: 26–30. eLIBRARY ID: 29232144.
7. Михайлова И. И., Евглевский А. А., Евглевская Е. П., Лещенко Т. Р., Михайлова О. Н., Евглевская Т. А. Профилактика метаболического ацидоза у коров при силосно-концентратном типе кормления. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2017; 4: 5–7. eLIBRARY ID: 29188050.
8. Турнаев С. Н., Евглевский А. А. Причины выбытия высокопродуктивных коров на молочных комплексах Курской области: состояние, проблемы, пути решения. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2014; 9: 67–69. eLIBRARY ID: 22978642.
9. Шевкопляс В. Н., Черных О. Ю., Терехов В. И., Лимаренко А. А., Мищенко В. А. Мероприятия по предупреждению выбытия высокопродуктивных коров в сельскохозяйственных предприятиях Краснодарского края: методические рекомендации. Краснодар; 2010. 55 с.
10. Конвай В. Д., Зайнчковский В. И., Скачков Д. В., Оржеховский С. А. Механизмы развития метаболических нарушения у высокопродуктивных коров. *Вестник Омского ГАУ*. 2013; 1 (9): 59–62. eLIBRARY ID: 22507279.
11. Мищенко В. А., Мищенко А. В., Думова В. В., Ермилов И. В., Якубенко Е. В., Черных О. Ю. Анализ нарушений обмена веществ у высокоудойных коров. *Ветеринария Кубани*. 2012; 6: 15–17. eLIBRARY ID: 18425045.
12. Евглевский А. А., Скира В. Н., Евглевская Е. П., Ванина Н. В., Михайлова И. И., Сулейманова Т. А., Переверзева Ю. А. и др. Метаболический ацидоз у высокопродуктивных коров: причины, последствия, профилактика. *Ветеринария*. 2017; 5: 45–48. eLIBRARY ID: 29155246.
13. Мищенко В. А., Мищенко А. В., Гладили Г. В. Метаболический иммунодефицит у высокопродуктивного крупного рогатого скота. *Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного*

комплекса регионов: сборник докладов Международной научно-практической конференции (11–13 сентября 2019 г.). Курск: ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр»; 2019; 614–618. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_41155736_17371499.pdf.

14. Рыжкова Г. Ф., Евлевский А. А., Евлевская Е. П., Миненков Н. А. Перераспределение электролитов между эритроцитами и плазмой крови коров при нарушении кислотно-щелочного равновесия (ацидоз рубца). *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2018; 4: 136–139. eLIBRARY ID: 35017281.

15. Батраков А. Я., Васильев Р. М., Донская Т. К., Васильева С. В. Показатели метаболизма у высокопродуктивных коров. *Ветеринария*. 2012; 6: 49–52. eLIBRARY ID: 17869654.

16. Черных О. Ю., Коцаев А. Г., Лысенко А. А., Лагутин Д. В., Кривонос Р. А., Калошкина И. М., Мищенко А. В. Проблема биологической безопасности стад крупного рогатого скота молочных пород в Российской Федерации. *Ветеринария Кубани*. 2018; 4: 4–7. eLIBRARY ID: 35611327.

17. Дерезина Т. Н., Ушакова Т. М. Биогеохимические аспекты этиопатогенетической характеристики микроэлементозов у крупного рогатого скота в системе «мать – потомство». *Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки РСФСР, доктора ветеринарных наук, профессора Кабыша Андрея Александровича (19 мая 2017 г.)*. Троицк: Южно-Уральский ГАУ; 2017; 114–120. Режим доступа: https://sursau.ru/upload/iblock/654/konf_100kabysh.pdf.

18. Евлевский А. А., Ерыженская Н. Ф., Скира В. Н., Евлевская Е. П., Рыжкова Г. Ф., Михайлова И. И. Дефицит энергии у новотельных коров: проблемы и решения. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2017; 4: 61–63. eLIBRARY ID: 30770207.

19. Евлевская Е. П., Евлевский А. А. Инновационные разработки для профилактики экономически значимых болезней высокопродуктивных животных в промышленном животноводстве. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2019; 1: 53–57. eLIBRARY ID: 37107175.

20. Михайлова И. И., Евлевская Е. П., Михайлова О. Н., Михалева Т. И., Лещенко Т. Р. Патобиохимические изменения в метаболическом статусе высокопродуктивных коров. *Ветеринарная патология*. 2016; 1 (55): 75–80. eLIBRARY ID: 26210931.

21. Евлевский А. А., Евлевская Е. П., Михалева Т. И., Михайлова О. Н. Иммунометаболическая активность препарата на основе янтарной кислоты и левамизола. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2013; 1: 64–65. eLIBRARY ID: 20777355.

22. Мищенко В. А., Мищенко А. В., Черных О. Ю. Проблема патологии печени у высокопродуктивных коров. *Ветеринария Кубани*. 2014; 2: 11–12. eLIBRARY ID: 21545869.

23. Голодяева М. С., Батраков А. Я., Виденин В. Н., Яшин А. В. Влияние рациона кормления на биохимический статус и заболеваемость нетелей и высокопродуктивных коров. *Международный вестник ветеринарии*. 2019; 3: 86–91. eLIBRARY ID: 41138493.

24. Алехин Ю. А. Болезни печени у высокопродуктивных коров (диагностика, профилактика и терапия). *Ветеринария*. 2011; 6: 3–7. eLIBRARY ID: 16443801.

25. Баринов Н. Д., Калужный И. И. Зависимость иммунной системы от энергетического обмена у телят в колостральном периоде. *Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки РСФСР, доктора ветеринарных наук, профессора Кабыша Андрея Александровича (19 мая 2017 г.)*. Троицк: Южно-Уральский ГАУ; 2017; 21–27. Режим доступа: https://sursau.ru/upload/iblock/654/konf_100kabysh.pdf.

26. Нечаев А. В., Минюк Л. А., Гришина Д. Ю. Профилактика метаболических заболеваний высокопродуктивных коров. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017; 2 (38): 143–147. DOI: 10.18286/1816-4501-2017-2-143-147.

27. Ванина Н. В., Евлевская Е. П., Ерыженская Н. Ф., Евлевский А. А. Дефицит энергии у высокопродуктивных коров – проблемы и практические решения. *Интеграция науки и сельскохозяйственного производства: материалы Международной научно-практической конференции (16–17 февраля 2017 г.)*. Курск: Курская ГСХА; 2017; 299–304. eLIBRARY ID: 29249956.

28. Дерезина Т. Н., Ушакова Т. М. Динамика параметров неспецифической резистентности у крупного рогатого скота в системе «мать – потомство» на фоне дефицита жизненно важных микроэлементов. *Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки РСФСР, доктора ветеринарных наук, профессора Кабыша Андрея Александровича (19 мая 2017 г.)*. Троицк: Южно-Уральский ГАУ; 2017; 120–127. Режим доступа: https://sursau.ru/upload/iblock/654/konf_100kabysh.pdf.

29. Мищенко А. В., Мищенко В. А. Факторы, влияющие на формирование поствакцинального иммунитета у крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2020; 11: 3–6. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.11.03-06.

30. Иль Е. Н., Заболотных М. В. Выявление нарушений обмена веществ у высокопродуктивных коров. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2019; 2: 83–89. eLIBRARY ID: 37209181.

31. Лейбова В. Б., Шапиев И. Ш., Турлова Ю. В. Биохимические показатели крови коров с разным уровнем молочной продуктивности в ранний послелетельный период и их связь с воспроизводством. *Молочное и мясное скотоводство*. 2014; 6: 32–34. eLIBRARY ID: 22134097.

32. Мищенко В. А., Мищенко А. В., Яшин Р. В., Гладилин Г. В. Проблема вакцинопрофилактики животных: известное и неизвестное. *Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов: сборник докладов Международной научно-практической конференции (8–9 сентября 2020 г.)*. Курск: ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр»; 2020; 203–208. DOI: 10.18411/isbn978-5-907167-82-7.

33. Требухов А. В. Особенности нарушения обмена веществ у высокопродуктивных коров в биогеохимической провинции Алтайского края. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2018; 8 (166): 95–99. eLIBRARY ID: 36496985.

34. Батраков А. Я., Яшин А. В., Донская Т. К., Винникова С. В. Метаболические процессы у высокопродуктивных коров, их профилактика. *Материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения Заслуженного деятеля науки РСФСР, доктора ветеринарных наук, профессора Кабыша Андрея Александровича (19 мая 2017 г.)*. Троицк: Южно-Уральский ГАУ; 2017; 28–34. Режим доступа: https://sursau.ru/upload/iblock/654/konf_100kabysh.pdf.

REFERENCES

1. Zhukov I. V., Ushkova A. A. Analysis of biochemical status of cattle imported breeding. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2014; 4: 118–121. DOI: 10.20914/2310-1202-2014-4-118-121. (in Russian)

2. Kochnev N. N. Influence of technological factors on biochemical status in dairy cows. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2012; 2 (225): 39–45. eLIBRARY ID: 17729501. (in Russian)

3. Mischenko V. A., Turnaev S. N. Challenges of ensuring cow health in industrial animal husbandry: realities, causes and proposed solutions [Problem obespecheniya zdorov'ya korov v promyshlennom zhivotnovodstve: realii, prichiny ih vyzyvayushchie i predlagayemye resheniya]. *Problems and Prospects of Scientific-Innovative Support of the Agro-Industrial Complex of Regions: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference (September 8–9, 2020)*. Курск: FSBSI «Kursk Federal Agricultural Research Center»; 2020; 28–34. DOI: 10.18411/isbn978-5-907167-82-7. (in Russian)

4. Konvai V. D., Zabolotnykh M. V. Metabolic disorders in high yielding cows. *Vestnik Omsk SAU*. 2017; 3 (27): 130–136. eLIBRARY ID: 30467978. (in Russian)

5. Petryankin F. P., Lavrentyev A. Yu., Sherne V. S. The influence of feeding on immune status of organism of animals (scientific review). *Veterinariya sel'skhozajstvennykh zhivotnykh*. 2018; 3: 41–46. eLIBRARY ID: 36759628. (in Russian)

6. Evglevskiy A. A., Turnaev S. N., Tarasov V. Yu., Lebedev A. F., Shvets O. M., Evglevskaya E. P. The health of highly productive cows in livestock industry and practical solution of the problem. *Vestnik of the Kursk State Agricultural Academy*. 2017; 4: 26–30. eLIBRARY ID: 29232144. (in Russian)

7. Mihailova I. I., Evglevskii A. A., Evglevskaya E. P., Leschenko T. R., Mihailova O. N., Evglevskaya T. A. Prevention of metabolic acidosis in cows with silage-concentrate feeding. *Russian Veterinary Journal. Productive Animals*. 2017; 4: 5–7. eLIBRARY ID: 29188050. (in Russian)

8. Turnaev S. N., Evglevskiy A. A. The reasons for the disposal of highly productive cows on dairy complexes Kursk region: status, problems, solutions. *Vestnik of the Kursk State Agricultural Academy*. 2014; 9: 67–69. eLIBRARY ID: 22978642. (in Russian)

9. Shevkopyas V. N., Chernykh O. Yu., Terekhov V. I., Limarenko A. A., Mischenko V. A. Measures to prevent retirement of highly productive cows in agricultural establishments of the Krasnodar Krai [Meropriyatiya po preduprezhdeniyu vybytiya vysokoproduktivnykh korov v sel'skhozajstvennykh predpriyatiyah Krasnodarskogo kraja]: Methodological Recommendations. Krasnodar; 2010. 55 p. (in Russian)

10. Konvai V. D., Zaynchkovskiy V. I., Skachkov D. V., Orzhekhovskiy S. A. Mechanisms of development of metabolic violations at highly productive cows. *Vestnik Omsk SAU*. 2013; 1 (9): 59–62. eLIBRARY ID: 22507279. (in Russian)

11. Mishchenko V. A., Mishchenko A. V., Dumova V. V., Ermilov I. V., Yakubenko E. V., Chernykh O. Yu. Dysbolic analysis of high milk yield cows. *Veterinariya Kubani*. 2012; 6: 15–17. eLIBRARY ID: 18425045. (in Russian)

12. Evglevskiy A. A., Skhira V. N., Evglevskaya E. P., Vanina N. V., Mikhailova I. I., Suleimanova T. A., Pereverzeva J. A. Metabolic acidosis of high-yielding cows: causes, consequences, prophylaxes. *Veterinariya*. 2017; 5: 45–48. eLIBRARY ID: 29155246. (in Russian)

13. Mischenko V. A., Mischenko A. V., Gladilin G. V. Metabolic immunodeficiency in high yielding cattle [Metabolicheskij immunodeficit u vysokopro-

duktivnogo krupnogo rogatogo skota.]. *Problems and Prospects of Scientific-Innovative Support of the Agro-Industrial Complex of Regions: Proceedings of the International Scientific Conference* (September 11–13, 2019). Kursk: FSBSI «Kursk Federal Agricultural Research Center»; 2019; 614–618. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_41155736_17371499.pdf. (in Russian)

14. Ryzhkova G. F., Evglevsky A. A., Evglevskaya E. P., Minenkov N. A. The redistribution of electrolytes between the erythrocytes and plasma of cows blood at the violation of acid-base balance (acidosis of the rumen). *Vestnik of the Kursk State Agricultural Academy*. 2018; 4: 136–139. eLIBRARY ID: 35017281. (in Russian)

15. Batrakov A. Ia., Vasiliev R. M., Donskaya T. K., Vasilieva S. V. The indices of metabolism in highly productive cows. *Veterinariya*. 2012; 6: 49–52. eLIBRARY ID: 17869654. (in Russian)

16. Chernykh O. Yu., Koshchaev A. G., Lysenko A. A., Lagutin D. V., Krivos R. A., Kaloshkina I. M., Mischenko A. V. Problem of biological safety of flocks of cattle of dairy breeds in the Russian Federation. *Veterinaria Kubani*. 2018; 4: 4–7. eLIBRARY ID: 35611327. (in Russian)

17. Derezhina T. N., Ushakova T. M. Biogeochemical aspects of etiopathogenesis characteristics of microelementoses in cattle in the system «mother-offspring». *Materials of the International Scientific and Practical Conference Dedicated to the 100th Anniversary of the Honored Scientist of the RSFSR, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor Andrey A. Kabysh (May 19, 2017)*. Troitsk: South Ural State Agrarian University; 2017; 114–120. Available at: https://sursau.ru/upload/iblock/654/konf_100kabysh.pdf. (in Russian)

18. Evglevskij A. A., Eryzhenskaya N. F., Skira V. N., Evglevskaya E. P., Ryzhkova G. F., Mikhailova I. I. Energy deficiency of the newly calved cows: problems and solutions. *Vestnik of the Russian Agricultural Sciences*. 2017; 4: 61–63. eLIBRARY ID: 30770207. (in Russian)

19. Evglevskaya E. P., Evglevsky A. A. Innovative developments for the prevention of economically important diseases of highly productive animals in industrial farming. *Vestnik of the Kursk State Agricultural Academy*. 2019; 1: 53–57. eLIBRARY ID: 37107175. (in Russian)

20. Mikhailova I. I., Evglevskaya E. P., Mikhailova O. N., Mikhaleva T. I., Leshchenko T. R. Pathobiochemical changes in the metabolic status of high yielding cows. *Veterinarnaya patologiya*. 2016; 1 (55): 75–80. eLIBRARY ID: 26210931. (in Russian)

21. Evglevsky A. A., Evglevskaya E. P., Mikhaleva T. I., Mikhailova O. N. Immunometabolic activity of the drug based on succinic acid and levamisole [Immunometabolicheskaya aktivnost' preparata na osnove yantar'noj kisloty i levamizola]. *Vestnik of the Kursk State Agricultural Academy*. 2013; 1: 64–65. eLIBRARY ID: 20777355. (in Russian)

22. Mishchenko V. A., Mishchenko A. V., Chernykh O. Yu. Liver pathology problem in high yielding cows. *Veterinaria Kubani*. 2014; 2: 11–12. eLIBRARY ID: 21545869. (in Russian)

23. Golodyaeva M. S., Batracov A. Ya., Videnin V. N., Yashin A. V. The effect of feeding ration on the bio-chemical status and morbidity of heifers and highly productive cows. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2019; 3: 86–91. eLIBRARY ID: 41138493. (in Russian)

24. Alyokhin Yu. N. Illnesses of a liver at cows with high production of milk (diagnostics, prophylaxis and therapy). *Veterinariya*. 2011; 6: 3–7. eLIBRARY ID: 16443801. (in Russian)

25. Barinov N. D., Kalyuzhnyi I. I. Dependence of the immune system on energy metabolism in calves during the colostral period. *Materials of the International Scientific and Practical Conference Dedicated to the 100th Anniversary of the Honored Scientist of the RSFSR, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor Andrey A. Kabysh (May 19, 2017)*. Troitsk: South Ural State Agrarian University; 2017; 28–34. Available at: https://sursau.ru/upload/iblock/654/konf_100kabysh.pdf. (in Russian)

versary of the Honored Scientist of the RSFSR, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor Andrey A. Kabysh (May 19, 2017). Troitsk: South Ural State Agrarian University; 2017; 21–27. Available at: https://sursau.ru/upload/iblock/654/konf_100kabysh.pdf. (in Russian)

26. Nechaev A. V., Minyuk L. A., Grishina D. Y. Prevention of metabolic diseases of highly-productive cows. *Vestnik Ulyanovsk of State Agricultural Academy*. 2017; 2 (38): 143–147. DOI: 10.18286/1816-4501-2017-2-143-147. (in Russian)

27. Vanina N. V., Evglevskaya E. P., Yerizhenskaya N. F., Evglevsky A. A. Deficiency of energy in high-productive cows – problems and practical solutions. *Integration of Science and Agricultural Production [Integraciya nauki i sel'skohozyajstvennogo proizvodstva]: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference (February 16–17, 2017)*. Kursk: Kursk State Agricultural Academy; 2017; 299–304. eLIBRARY ID: 29249956. (in Russian)

28. Derezhina T. N., Ushakova T. M. Dynamics of parameters of non-specific cramps-santoshi have cattle in the system «mother-offspring» against the background of deficit of vital trace elements. *Materials of the International Scientific and Practical Conference Dedicated to the 100th Anniversary of the Honored Scientist of the RSFSR, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor Andrey A. Kabysh (May 19, 2017)*. Troitsk: South Ural State Agrarian University; 2017; 120–127. Available at: https://sursau.ru/upload/iblock/654/konf_100kabysh.pdf. (in Russian)

29. Mischenko A. V., Mischenko V. A. Factors, which influence the development of post vaccination immunity in livestock. *Veterinariya*. 2020; 11: 3–6. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.11.03-06. (in Russian)

30. Il E. N., Zabolotnykh M. V. Identification of material exchange disorders high-product cows. *Vestnik of the Kursk State Agricultural Academy*. 2019; 2: 83–89. eLIBRARY ID: 37209181. (in Russian)

31. Leybova V. B., Shapiev I. Sh., Turlova J. V. Biochemical composition of blood in early postpartum and their relationship to reproduction in black and white cows with different milk production. *Dairy and Beef Cattle Farming*. 2014; 6: 32–34. eLIBRARY ID: 22134097. (in Russian)

32. Mischenko V. A., Mischenko A. V., Yashin R. V., Gladilin G. V. Aspects of animal vaccination: known and unknown [Problema vakcinoprofilaktiki zhivotnyh: izvestnoe i neizvestnoe]. *Problems and Prospects of Scientific-Innovative Support of the Agro-Industrial Complex of Regions: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference (September 8–9, 2020)*. Kursk: FSBSI «Kursk Federal Agricultural Research Center»; 2020; 203–208. DOI: 10.18411/isbn978-5-907167-82-7. (in Russian)

33. Trebukhov A. V. The features of metabolic disorders in highly productive cows in the biogeochemical province of the Altai Region. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2018; 8 (166): 95–99. eLIBRARY ID: 36496985. (in Russian)

34. Batrakov A. Ya., Yashin A. V., Donskaya T. K., Vinnikova S. V. Metabolic processes in high-productive cows their prophylaxis. *Materials of the International Scientific and Practical Conference Dedicated to the 100th Anniversary of the Honored Scientist of the RSFSR, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor Andrey A. Kabysh (May 19, 2017)*. Troitsk: South Ural State Agrarian University; 2017; 28–34. Available at: https://sursau.ru/upload/iblock/654/konf_100kabysh.pdf. (in Russian)

Поступила 09.06.2021

Принята в печать 19.07.2021

Received on 09.06.2021

Approved for publication on 19.07.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мищенко Владимир Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Мищенко Алексей Владимирович, доктор ветеринарных наук, старший научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Евграфова Валерия Андреевна, кандидат ветеринарных наук, заведующий сектором лаборатории профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Никешина Татьяна Борисовна, кандидат биологических наук, начальник отдела образования и научно-методической работы ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Vladimir A. Mischenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, Laboratory for Porcine and Horned Livestock Disease Prevention, FGBI «ARRIAH», Vladimir, Russia.

Alexey V. Mischenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI «ARRIAH», Vladimir, Russia.

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

Valeria A. Yevgrafova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Sector, Laboratory for Porcine and Horned Livestock Disease Prevention, FGBI «ARRIAH», Vladimir, Russia.

Tatiana B. Nikeshina, Candidate of Science (Biology), Head of Department of Education and Scientific and Methodical Work, FGBI «ARRIAH», Vladimir, Russia.



Роль острых респираторных заболеваний в патогенезе инфекций дистального отдела конечностей крупного рогатого скота

А. Д. Алексеев¹, О. Г. Петрова², М. И. Барашкин³, И. М. Мильштейн⁴, В. Д. Москвин⁵

ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Уральский ГАУ), г. Екатеринбург, Россия

¹ ORCID 0000-0002-0418-4498, e-mail: alekseev.urgau@mail.ru

² ORCID 0000-0003-3105-1751, e-mail: super.kafedra2013@yandex.ru

³ ORCID 0000-0002-8865-3027, e-mail: dekanatvet@yandex.com

⁴ ORCID 0000-0001-6293-718X, e-mail: 4u4@bk.ru

⁵ ORCID 0000-0002-0450-6987, e-mail: vsloth@mail.ru

РЕЗЮМЕ

По современным представлениям ацидоз рубца и метаболический ацидоз являются следствием кормления крупного рогатого скота преимущественно консервированными кислыми кормами, такими как силос и сенаж. Вместе с тем погрешности в кормлении не единственный этиологический фактор, приводящий к ацидозу. В ряде случаев у крупного рогатого скота метаболический ацидоз может развиваться на фоне респираторной патологии, вызываемой вирусными и бактериальными агентами. Основными патологическими процессами, вызываемыми острыми респираторными заболеваниями крупного рогатого скота, являются бронхиты, трахеиты и пневмонии. При поражении респираторного тракта в организме животных возникает гипоксия, что ведет к развитию эндогенной интоксикации, приводящей к ацидозу рубца, в результате чего в кровь поступают сосудисто-активные вещества (эндотоксины бактерий, гистамин, лактат), за счет одновременного расширения артериол и сжатия венул повреждается эндотелий сосудов, наблюдается перфузия из сосудов в окружающие ткани жидкости крови, нарушается кровоток в микроциркуляторном русле. Немаловажную роль в нарушении циркуляции крови в мелких кровеносных сосудах играют циркулирующие иммунные комплексы, представляющие собой комплекс антиген – антитело. Низкомолекулярные циркулирующие иммунные комплексы, оседая в разнообразных органах и тканях организма, приводят к воспалению и повреждают нормальную структуру тканей. Наиболее часто иммунные комплексы поражают эндотелий кровеносных сосудов, почечные клубочки и суставы. У крупного рогатого скота в первую очередь поражаются сосуды дистального отдела конечностей, что ведет к нарушению трофики кожи конечностей и копытцев, развивается ламинит, при этом копытный рог слабо кератинизирован и не может противостоять агрессивным механическим и химическим факторам внешней среды. Поврежденные копытца являются воротами инфекции для возбудителей некробактериоза (*Fusobacterium necrophorum*), стафилококкоза (*Staphylococcus* spp.), стрептококкоза (*Streptococcus* spp.) и других патогенов. Кроме того, благоприятные условия для развития микст-инфекции создаются за счет снижения общей резистентности организма, что отмечается как при респираторной патологии, так и при патологии дистального отдела конечностей.

Ключевые слова: острые респираторные заболевания крупного рогатого скота, инфекции дистального отдела конечностей крупного рогатого скота, некробактериоз, стафилококкоз, стрептококкоз, пастереллез, инфекционный ринотрахеит КРС, вирусная диарея КРС, парагрипп-3 КРС, респираторно-синцициальная инфекция КРС

Благодарность: Финансирование работы проводилось за счет хозяйственных договоров в рамках программы «Усовершенствование системы профилактики инфекционных болезней животных».

Для цитирования: Алексеев А. Д., Петрова О. Г., Барашкин М. И., Мильштейн И. М., Москвин В. Д. Роль острых респираторных заболеваний в патогенезе инфекций дистального отдела конечностей крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 190–196. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-190-196.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Петрова Ольга Григорьевна, доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры инфекционной и незаразной патологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет», 620075, Россия, г. Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42, e-mail: super.kafedra2013@yandex.ru.

Role of acute respiratory diseases in pathogenesis of distal limb infections in cattle

A. D. Alekseev¹, O. G. Petrova², M. I. Barashkin³, I. M. Milshtein⁴, V. D. Moskvina⁵

FSBEI HE "Urals State Agrarian University" (FSBEI HE Ural SAU), Ekaterinburg, Russia

¹ ORCID 0000-0002-0418-4498, e-mail: alekseev.urgau@mail.ru

² ORCID 0000-0003-3105-1751, e-mail: super.kafedra2013@yandex.ru

³ ORCID 0000-0002-8865-3027, e-mail: dekanatvet@yandex.com

⁴ ORCID 0000-0001-6293-718X, e-mail: 4u4@bk.ru

⁵ ORCID 0000-0002-0450-6987, e-mail: vsloth@mail.ru

SUMMARY

According to current concepts, ruminal and metabolic acidosis occur due to feeding cattle mainly with preserved acidic feeds such as silage and haylage. However, errors in feeding are not the only etiological factor leading to acidosis. In some cases, metabolic acidosis in cattle can develop along with respiratory infection caused by viral and bacterial agents. The main pathological processes resulting from acute respiratory diseases of cattle are bronchitis, tracheitis and pneumonias. When the respiratory tract is affected in cattle, hypoxia occurs, causing intoxication and, thus, leading to ruminal acidosis. As a result, vasoactive substances (bacterial endotoxins, histamine, lactate) enter the bloodstream, the vascular endothelium is damaged due to the simultaneous expansion of arterioles and compression of venules, blood fluid is perfused from the vessels into the surrounding tissues, the blood flow in the microcirculatory bed is disrupted. An important role in the disturbance of blood circulation in small blood vessels is played by circulating immune complexes representing the «antigen-antibody» complex. Low molecular weight circulating immune complexes settle in various organs and tissues of the body, lead to inflammation and damage the normal tissue structure. Most frequently, immune complexes affect the endothelium of blood vessels, renal glomeruli and joints. Distal limb vessels are primarily affected in cattle, leading to disturbance of skin trophism of the limbs and hooves, development of laminitis, while the hoof horn is weakly keratinized and cannot resist aggressive mechanical and chemical environmental factors. Damaged hooves are the gateway of infection for the agents of necrobacteriosis (*Fusobacterium necrophorum*), staphylococcosis (*Staphylococcus* spp.), streptococcosis (*Streptococcus* spp.) and other pathogens. In addition, favorable conditions evolve for the development of mixed infection due to reduction in the overall organism resistance, which is observed for both respiratory and distal limb infections.

Keywords: acute respiratory diseases of cattle, distal limb infections of cattle, necrobacteriosis, staphylococcosis, streptococcosis, pasteurellosis, bovine infectious rhinotracheitis, bovine viral diarrhea, bovine parainfluenza-3, bovine respiratory syncytial infection

Acknowledgement: The research was funded through the commercial contracts in the framework of the Program "Improvement of the system of animal infectious disease prevention".

For citations: Alekseev A. D., Petrova O. G., Barashkin M. I., Milshtein I. M., Moskvina V. D. Role of acute respiratory diseases in pathogenesis of distal limb infections in cattle. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 190–196. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-190-196.

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

For correspondence: Olga G. Petrova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Professor of the Department of Infectious and Non-infectious Pathology, FSBEI HE "Urals State Agrarian University", 620075, Russia, Ekaterinburg, K. Liebknecht, 42, e-mail: super.kafedra2013@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Заболевания конечностей у крупного рогатого скота при интенсивном ведении животноводства встречаются довольно часто и иногда приобретают массовый характер. Основными причинами являются грубые нарушения кормления и содержания животных, а также респираторные болезни инфекционной этиологии.

По нашим наблюдениям, в 25,4% случаев респираторная патология у коров ассоциируется с инфекциями дистального отдела конечностей, прежде всего с некробактериозом, стрептококкозом и стафилококкозом, которые наносят экономический ущерб за счет снижения продуктивности и выбраковки до 30% высокопродуктивных животных [1, 2].

Одним из факторов, влияющих на развитие инфекций дистального отдела конечностей у КРС, являются острые инфекции респираторного тракта, такие как инфекционный ринотрахеит (ИРТ КРС), вирусная диарея (ВД КРС), парагрипп-3 (ПГ-3 КРС), респираторно-синцициальная инфекция (РСИ КРС), пастереллез, хламидиоз, сальмонеллез. Хозяйства, в которых регистрировались вспышки некробактериоза, были неблагоприятны по респираторным инфекциям крупного рогатого скота.

Целью исследований являлось теоретическое и практическое обоснование патогенетической роли острых респираторных заболеваний при инфекциях дистальных отделов конечностей крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на базе кафедры инфекционной и незаразной патологии ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет» и сельскохозяйственных предприятий Уральского региона в период с 2014 по 2021 г. В работе применяли эпизоотологический, патоморфологический, иммунологический и бактериологический методы исследований.

Эпизоотическая обстановка по острым респираторным заболеваниям оценивалась статистическим методом – изучались годовые отчеты информационно-аналитического центра Управления ветнадзора Россельхознадзора (ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»), БУ Удмуртской Республики «Удмуртский ветеринарно-диагностический центр», ФГБУ «Челябинская межобластная ветеринарная лаборатория», ГБУ Свердловской области «Свердловская областная ветеринарная лаборатория».

Объектами изучения были крупный рогатый скот, выращиваемый в условиях промышленного производства (привязное содержание), кровь, сыворотка крови, соскобы с копыт, а также патологический материал, полученный от вынужденно убитого 14-суточного теленка с признаками пневмонии (кусочки легкого и бронхиальные лимфатические узлы).

Патологический материал от вынужденно убитого теленка фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, заливали парафином и готовили гистологические препараты по общепринятой методике. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, а также по методу Ван Гизона, затем подвергали световой микроскопии по общепринятой методике.

Материалом для иммунологических исследований являлась кровь коров и телят. Оценку количества циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови осуществляли методом иммунопреципитации в 4%-м растворе полиэтиленгликоля (ПЭГ-6000) с последующим фотометрированием на спектрофотометре СФ-2000 (ООО «ОКБ Спектр», Россия).

Бактериологические исследования проводились по общепринятым методикам.

Цифровые данные эпизоотологических и лабораторных исследований обработаны методами математической статистики, принятыми в биологии и медицине. Достоверность результатов определяли путем статистической обработки с помощью парного *t*-критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Обработку полученных статистических и экспериментальных данных проводили с использованием программы Microsoft Excel, входящей в офисный пакет Microsoft Office.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Острые респираторные заболевания (ОРЗ) в инфекционной патологии крупного рогатого скота Урала занимают второе место после заболеваний желудочно-кишечного тракта инфекционной этиологии [1]. Наибольшее распространение инфекционных болезней респираторного тракта зарегистрировано у животных

на сельскохозяйственных предприятиях Удмуртской Республики, где ведущее место в нозологической картине патологий дыхательной системы инфекционной природы по количеству неблагополучных пунктов занимают: пастереллез – 41,5%, ПГ-3 КРС – 16,7%, хламидиоз – 14,1%, ВД КРС – 11,8%, ИРТ КРС – 10,6%, РСИ КРС – 5,3% [2, 3].

В животноводческих хозяйствах Челябинской области зарегистрированы: пастереллез – 46,3%, ИРТ КРС – 21,9%, ВД КРС – 12,3%, хламидиоз – 7,3%, ПГ-3 КРС – 7,3%, РСИ КРС – 4,9%. В Свердловской области в хозяйствах по разведению КРС выявлены: пастереллез – 63,7%, ПГ-3 КРС – 14,9%, ВД КРС – 8,5%, ИРТ КРС – 7,4%, хламидиоз – 5,5% (табл. 1).

При проведении оценки распространенности РСИ КРС в животноводческих предприятиях Уральского экономического региона установлено, что в общей инфекционной патологии респираторного тракта КРС частота выявления данного заболевания в Удмуртской Республике составляет 5,3%, в Челябинской области – 4,9%. В Свердловской области, по данным ГБУ СО «Свердловская областная ветеринарная лаборатория», РСИ КРС не регистрировалась [4, 5].

Серологические, молекулярно-биологические, микробиологические и иммунологические исследования свидетельствуют о широком участии в респираторной патологии возбудителей разных таксономических групп. Наиболее часто выявляются ассоциации РСИ КРС с ИРТ КРС, пастереллезом и другими инфекционными агентами (табл. 2, 3).

В крупных животноводческих хозяйствах молочно-го направления выявление сероконверсии к РСИ КРС зависело от уровня инфицированности животных вирусом ИРТ КРС и возбудителем пастереллеза, а также наличия в стадах особей, латентно инфицированных респираторно-синцитиальным вирусом. При этом уровень зараженности животных вирусом ИРТ КРС составил от 10,6 до 21,9%, пастереллезом – от 41,5 до 46,3% [5].

Различий в географическом распространении болезни среди крупного рогатого скота различных возрастов нами не установлено. Наибольшее количество положительных серологических реакций к вирусам ИРТ КРС, ВД КРС, РСИ КРС и раневым инфекциям дистальных отделов конечностей КРС получено в крупных животноводческих хозяйствах молочного направления с высокой концентрацией поголовья и молочной продуктивностью стада. Инфицированность крупного рогатого скота в средних и мелких животноводческих хозяйствах была ниже, однако при повышении молочной продуктивности она возрастала, а вместе с ней увеличивался риск возникновения респираторных заболеваний, протекающих с участием данных инфекционных агентов. Распространению болезней способствовали скученное содержание животных и наличие в стаде латентных вирусоносителей [4].

Результатами различных исследований было доказано, что спектр инфекционных агентов, вызывающих заразные заболевания респираторного тракта крупного рогатого скота и раневые инфекции дистальных отделов конечностей, достаточно широк. Инфекции бактериальной этиологии часто являются секундарными, но могут протекать как сопутствующие или самостоятельные. Это зависит от концентрации животных в животноводческих помещениях, наличия или отсут-

Таблица 1
Процент неблагополучных по острым респираторным заболеваниям крупного рогатого скота инфекционной этиологии животноводческих предприятий

Table 1
Rate of acute respiratory infections in cattle at livestock establishments

Заболевание	Удмуртская Республика, %	Челябинская область, %	Свердловская область, %
Пастереллез	41,5	46,3	63,7
Хламидиоз	14,1	7,3	5,5
ПГ-3 КРС	16,7	7,3	14,9
ВД КРС	11,8	12,3	8,5
ИРТ КРС	10,6	21,9	7,4
РСИ КРС	5,3	4,9	–

Разница достоверна $p \leq 0,05$ (The difference is reliable $p \leq 0.05$).

ствия специфической вакцинопрофилактики вирусных и бактериальных инфекций, а также внутрихозяйственных факторов. В связи с этим при планировании противозооотических мероприятий крайне необходимо проводить весь комплекс лабораторных диагностических исследований (вирусологических, бактериологических) с целью расшифровки нозологической структуры конкретной вспышки респираторных инфекций и определения этиологической роли каждого инфекционного патогена.

При гистологическом исследовании патологического материала (легкое и бронхиальные лимфатические узлы), отобранного в одном из животноводческих хозяйств Челябинской области от вынужденно убитого 14-суточного теленка с признаками респираторного заболевания, были установлены признаки пневмонии, характерной для пастереллеза (рис. 1, 2), в тканях легких обнаружены синцитии, что является диагностическим признаком РСИ КРС (рис. 3, 4) [3, 4, 5].

По результатам гистологического исследования было сделано заключение: характер процессов, обнаруженных в исследуемых препаратах, соответствует ассоциированной вирусно-бактериальной инфекции (РСИ КРС + пастереллез) [3, 4, 5]. Данный диагноз был подтвержден лабораторными методами исследований (материалы не включены в данную статью).

Кроме инфекций дыхательной системы в хозяйстве, где проводились исследования, у животных была зарегистрирована инфекционная патология дистального отдела конечностей. При бактериологическом исследовании соскобов с копытцев коров был выделен возбудитель некробактериоза – *Fusobacterium necrophorum*.

Таким образом, в данном хозяйстве была зарегистрирована микст-инфекция – неблагополучие по острым респираторным заболеваниям инфекционной этиологии в ассоциации с раневой инфекцией дистального отдела конечностей (РСИ КРС + пастереллез + некробактериоз).

На следующем этапе работы определяли концентрацию ЦИК в крови стельных коров за два месяца до отела и телят в возрасте 1 мес. (табл. 4). Как видим, концентрация ЦИК у коров и телят была выше физиологической нормы, что является признаком недостаточной элиминации их из организма и повышает риск осаждения этих комплексов в нормальных тканях. Немаловажным патогенетическим фактором развития раневых инфекций дистального отдела конечностей КРС в ряде случаев являются острые респираторные инфекции.

По современным представлениям ацидоз рубца и, как следствие, метаболический ацидоз являются результатом кормления крупного рогатого скота преимущественно консервированными кислыми кормами, такими как силос и сенаж [6–10]. Целлюлозолитические бактерии (*Ruminococcus* и др.), а также грибы семейства *Neocallimastigaceae* чувствительны к рН среды: кислая среда угнетает их рост, и поэтому целлюлазная активность содержимого рубца уменьшается. Желудочно-кишечный тракт коровы перестает переваривать клетчатку, резко снижается усвояемость рациона. Кислая среда также подавляет рост бактерий *Streptococcus bovis*, которые являются представителем микробиома рубца жвачных, участвуют в расщеплении пектина, белка и крахмала и тем самым способствуют закислению среды. *Streptococcus bovis* замещается молочно-

кислыми бактериями рода *Lactobacillus*, более устойчивыми к кислой среде. Подобные условия являются благоприятными для размножения в рубце бактерии *Fusobacterium necrophorum*, которая может попадать в кровотоки, а также других микроорганизмов, способных вырабатывать токсины.

Вместе с тем погрешности в кормлении не являются единственным этиологическим фактором, приводящим к ацидозу. Так, рядом авторов установлено, что на фоне возникновения респираторной патологии, вызванной вирусными и бактериальными агентами, у крупного рогатого скота развивается ацидоз [8, 9, 11, 12].

Основными патологическими процессами в дыхательных путях, вызываемыми ОРЗ КРС, являются бронхиты, трахеиты и пневмонии. При поражении

Таблица 2
Вирусно-бактериальные ассоциации РСИ КРС на сельскохозяйственных предприятиях Удмуртской Республики

Table 2
Viral and bacterial associations of BRSV in livestock establishments of the Republic of Udmurtia

Вирусно-бактериальные ассоциации РСИ КРС в Удмуртской Республике	Процент от общего количества неблагополучных по ОРЗ пунктов, %
РСИ КРС + пастереллез + хламидиоз	1,8
РСИ КРС + ИРТ КРС + пастереллез	1,6
РСИ КРС + пастереллез	1,6
РСИ КРС + ИРТ КРС + ВД КРС + пастереллез	1,5
РСИ КРС + ИРТ КРС + пастереллез + хламидиоз	1,4
РСИ КРС + ИРТ КРС + ВД КРС + пастереллез + хламидиоз	0,8
РСИ КРС + ИРТ КРС + ВД КРС + хламидиоз	0,8
РСИ КРС + ИРТ КРС + ВД КРС	1,5
РСИ КРС + ВД КРС + пастереллез	0,5
РСИ КРС + ИРТ КРС + ПГ-3 КРС + пастереллез	0,4

Разница достоверна $p \leq 0,05$ (The difference is reliable $p \leq 0.05$).

Таблица 3
Вирусно-бактериальные ассоциации РСИ КРС на сельскохозяйственных предприятиях Челябинской области

Table 3
Viral and bacterial associations of BRSV in livestock establishments of the Chelyabinsk Oblast

Вирусно-бактериальные ассоциации РСИ КРС в Челябинской области	Процент от общего количества неблагополучных по ОРЗ пунктов, %
РСИ КРС + ИРТ КРС + пастереллез	4,9
РСИ КРС + ИРТ КРС + ВД КРС + ПГ-3 КРС + пастереллез + хламидиоз	2,4

Разница достоверна $p \leq 0,05$ (The difference is reliable $p \leq 0.05$).

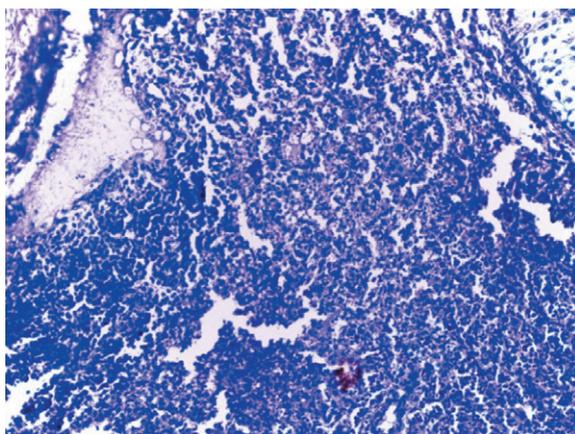


Рис. 1. Очаги гнойной пневмонии (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$)

Fig. 1. Foci of purulent pneumonia (hematoxylin – eosin staining, magnification 200 \times)

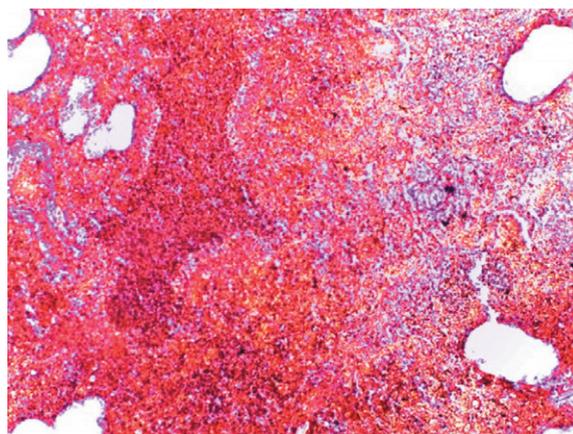


Рис. 2. Очаговая геморрагическая пневмония (окраска по Ван Гизону, ув. $\times 200$)

Fig. 2. Focal hemorrhagic pneumonia (staining according to Van Gizon, magnification 200 \times)

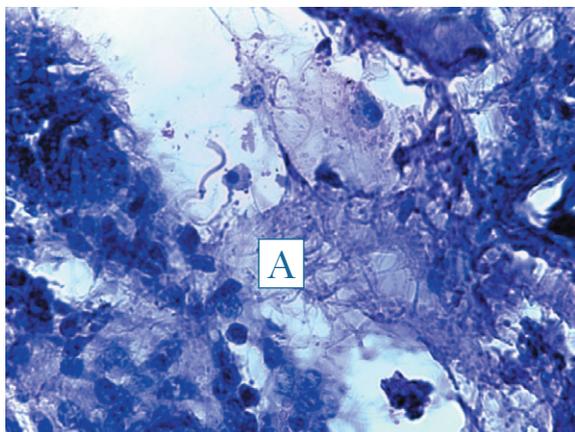


Рис. 3. Макрофаги в легком и синцитии (A), характерные для респираторно-синцитиальной инфекции (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 630$)

Fig. 3. Macrophages in the lung and syncytia (A), characteristic of respiratory syncytial infection (hematoxylin – eosin staining, magnification 630 \times)

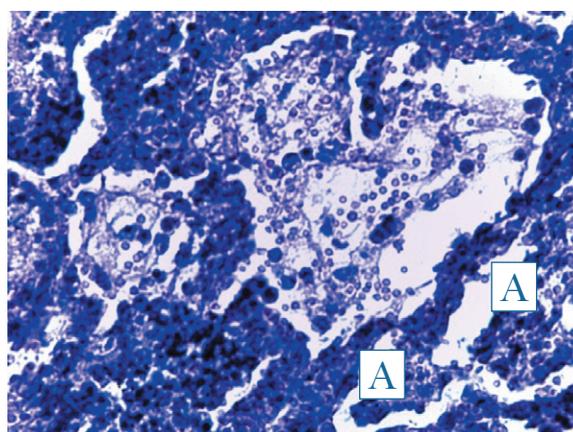


Рис. 4. Макрофаги, эритроциты и синцитии (A) в просвете альвеол, характерные для респираторно-синцитиальной инфекции (окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$)

Fig. 4. Macrophages, erythrocytes and syncytia (A) in the lumen of the alveoli, characteristic of respiratory syncytial infection (hematoxylin – eosin staining, magnification 400 \times)

респираторного тракта в организме животных возникает гипоксия, что ведет к развитию эндогенной интоксикации, приводящей к ацидозу рубца [11, 12], в результате чего в кровь поступают сосудисто-активные вещества (эндотоксины бактерий, гистамин, лактат) [7–10], за счет одновременного расширения артериол и сжатия венул повреждается эндотелий

сосудов, наблюдается перфузия из сосудов в окружающие ткани жидкости крови, нарушается кровоток в микроциркуляторном русле [7].

Немаловажную роль в нарушении циркуляции крови в мелких кровеносных сосудах играют ЦИК, представляющие собой комплекс антиген – антитело. Образование ЦИК – один из факторов нормального ответа иммунной системы организма на внедрение патогена. Вместе с тем повышенная концентрация ЦИК, возникающая при большой антигенной нагрузке на организм или при нарушении механизмов их элиминации из организма, ведет к патологическим изменениям в тканях и органах животных, что обусловлено высокой биологической активностью иммунных комплексов. Большинство ЦИК быстро удаляется из кровотока организма благодаря ретикулогистиоцитарной системе, которая объединяет различные гетерогенные группы клеток организма, в частности купферовские клетки, способные к активному фагоцитозу. ЦИК обладают как

Таблица 4
Концентрация циркулирующих иммунных комплексов в крови коров и телят

Table 4
Concentration of circulating immune complexes in the blood of cows and calves

Показатель	Коровы (n = 10)	Телята (n = 10)
ЦИК, у.е.	212,400 \pm 0,645	234,460 \pm 5,905

иммуностимулирующими, так и иммуносупрессивными свойствами. Наибольшее патогенное воздействие оказывают комплексы, способные активировать систему комплемента и реагировать с клетками крови, имеющими рецепторы для связывания иммуноглобулинов или комплемента. Основным механизмом повреждающего действия ЦИК является комплемент- и нейтрофилозависимым. ЦИК, связанные с комплементом, проявляют хемотаксические свойства, что ведет к скоплению нейтрофилов в очагах поражения и выходу из них гидролитических ферментов, разрушающих ткани организма. Вместе с тем ЦИК могут вызывать патологию и независимо от присутствия нейтрофилов и комплемента [13]. Низкомолекулярные ЦИК, оседая в разнообразных органах и тканях организма, приводят к воспалению и повреждают нормальную структуру тканей. Наиболее часто иммунными комплексами повреждаются эндотелий кровеносных сосудов, почечные клубочки и суставы [14].

У крупного рогатого скота в первую очередь поражаются сосуды дистального отдела конечностей, что ведет к нарушению трофики кожи конечностей и копытцев, развивается ламинит, при этом копытный рог слабо кератинизирован и не может противостоять агрессивным механическим и химическим факторам внешней среды [7, 10]. Поврежденные копытца являются воротами инфекции для возбудителей некробактериоза (*Fusobacterium necrophorum*), стафилококкоза (*Staphylococcus* spp.), стрептококкоза (*Streptococcus* spp.) и других патогенов [7, 10, 12, 15]. Кроме того, благоприятные условия для развития микст-инфекции создаются за счет снижения общей резистентности организма, что отмечается как при респираторной патологии, так и при патологии дистального отдела конечностей [15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показали исследования, одним из патогенетических факторов, способствующих развитию инфекций дистального отдела конечностей у КРС, являются респираторные болезни, при которых происходит снижение естественной резистентности организма с возникновением на этом фоне метаболического ацидоза.

Комплексная профилактика инфекций дистального отдела конечностей КРС должна включать в себя обязательную лабораторную диагностику острых респираторных заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. 1 см. REFERENCES)

- Красноперов А. С., Марьян Е. М., Забродин Е. А., Барашкин М. И., Мильштейн И. М., Пряничников В. П., Тетерев Н. Н. Заболевание копытцев у крупного рогатого скота. *БИО*. 2020; 7 (238): 26–33. eLIBRARY ID: 44074061.
- Алексеев А. Д., Петрова О. Г., Дроздова Л. И. Особенности проявления острых респираторных вирусных инфекций крупного рогатого скота в современных условиях. *Аграрный вестник Урала*. 2015; 6 (136): 38–40. eLIBRARY ID: 24000590.
- Алексеев А. Д., Петрова О. Г., Дроздова Л. И. Респираторно-синцитиальная инфекция и ее роль в патогенезе острых респираторных заболеваний крупного рогатого скота. *Medicus*. 2016; 3 (9): 31–33. eLIBRARY ID: 25957400.
- Алексеев А. Д., Петрова О. Г., Дроздова Л. И. Респираторно-синцитиальная инфекция крупного рогатого скота и ее значение в эпизоотологии острых респираторных заболеваний. *Вестник Омского ГАУ*. 2015; 4 (20): 39–44. eLIBRARY ID: 25108641.
- Балаш А., Батиз Г., Бридл Е., Чаки Т., Гомбош Ш., Куртфалви А. Содержание, кормление и важнейшие ветеринарные вопросы при разведе-

дении голштино-фризской породы скота. Под ред. Е. Бридл; пер. с венг. Я. Захар. Будапешт: Агрота; 1994. 238 с.

7. Самоловов А. А., Лопатин С. В. Хромота – отражение системных метаболических болезней молочного скота. *Инновации и продовольственная безопасность*. 2013; 2 (2): 76–80. Режим доступа: <https://innfoodsecr.elpub.ru/jour/article/view/29>.

8. Евглевский А. А., Скира В. Н., Евглевская Е. П., Ванина Н. В., Михайлова И. И., Сулейманова Т. А., Переверзева Ю. А. Метаболический ацидоз у высокопродуктивных коров: причины, последствия, профилактика. *Ветеринария*. 2017; 5: 45–48. eLIBRARY ID: 29155246.

9. Евглевский А. А., Евглевская Е. П., Михайлова И. И., Ванина Н. В., Ерыженская Н. Ф., Сулейманова Т. А. Нарушения кислотно-основного состояния в организме коров: причины, последствия, пути решения. *Ветеринарная патология*. 2017; 1 (59): 53–58. eLIBRARY ID: 29737143.

10. Мельник Н. В., Самуйленко А. Я., Мельник Р. Н., Гринь С. А., Ключина В. И., Никитин А. И. и др. Некробактериоз животных. Лечение и профилактика. Под ред. акад. РАН А. Я. Самуйленко. Краснодар: КубГАУ; 2018; 279 с. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_36686875_13270852.pdf.

11. Алехин Ю. Н., Жуков М. С., Лебедева А. Ю. Функциональное состояние преджелудков на разных этапах развития бронхопневмонии и в посттерапевтический период у телят. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2016; 11: 13–19. eLIBRARY ID: 27257704.

12. Золотарев А. И., Черницкий А. Е., Рецкий М. И. Кислотно-основное состояние и газовый состав крови у телят при бронхите. *Ветеринария*. 2013; 7: 47–52. eLIBRARY ID: 19403634.

13. Магер С. Н., Деметьева Е. С. Физиология иммунной системы: учебное пособие. СПб.: Лань; 2014. 192 с.

14. Мейл Д., Бростофф Дж., Рот Д. Б., Ройтт А. Иммунология. Пер. с англ. М.: Логосфера; 2007. 568 с.

15. Барашкин М. И., Петрова О. Г. Особенности эпизоотологии инфекционных болезней дистальных отделов конечностей крупного рогатого скота при промышленных технологиях содержания. *Аграрный вестник Урала*. 2016; 3 (145): 27–31. eLIBRARY ID: 25797139.

REFERENCES

- Petrova O. G., Barachkin M. I., Drozdova L. I., Alekseev A. D. Respiratory syncytial infection. Dissemination, relevance, problems. *Advances in Agricultural and Biological Sciences*. 2017; 3 (4): 25–34. DOI: 10.22406/aabs-17-3-4-25-34.
- Krasnoperov A. S., Maryin E. M., Zabrodin E. A., Barashkin M. I., Milshtein I. M., Pryanichnikov V. P., Teterev N. N. Diseases of the hoof in cattle [Zabolevaniya kopytcev u krupnogo rogatogo skota]. *BIO*. 2020; 7 (238): 26–33. eLIBRARY ID: 44074061. (in Russian)
- Alekseev A. D., Petrova O. G., Drozdova L. I. The particular manifestations of acute respiratory viral infections of cattle in modern conditions. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2015; 6 (136): 38–40. eLIBRARY ID: 24000590. (in Russian)
- Alekseev A. D., Petrova O. G., Drozdova L. I. Respiratory syncytial infection and its role in pathogenesis of acute respiratory diseases of cattle stock. *Medicus*. 2016; 3 (9): 31–33. eLIBRARY ID: 25957400. (in Russian)
- Alekseev A. D., Petrova O. G., Drozdova L. I. Bovine respiratory syncytial infection and its importance in the epidemiology of acute respiratory disease. *Bulletin of Omsk State Agrarian University*. 2015; 4 (20): 39–44. eLIBRARY ID: 25108641. (in Russian)
- Balash A., Batiz G., Bridl E., Chaki T., Gombosh Sh., Kurtfalvi A. Maintenance, feeding and the most important veterinary issues in the breeding of the Holstein-Friesian cattle breed. Ed. by E. Bridle; translated by Ya. Zakhar. Budapest: Agrotia; 1994. 238 p. (in Russian)
- Samolovov A. A., Lopatin S. V. Lameness – reflection of system metabolic diseases of the dairy cattle. *Innovations and Food Safety*. 2013; 2 (2): 76–80. Available at: <https://innfoodsecr.elpub.ru/jour/article/view/29>. (in Russian)
- Evglevsky A. A., Skhira V. N., Evglevskaya E. P., Vanina N. V., Mikhailova I. I., Suleimanova T. A., Pereverzeva J. A. Metabolic acidosis of high yielding cows: causes, consequences, prophylaxes. *Veterinariya*. 2017; 5: 45–48. eLIBRARY ID: 29155246. (in Russian)
- Evglevsky A. A., Evglevskaya E. P., Mikhailova I. I., Vanina N. V., Erizhenskaya N. F., Suleymanova T. A. Disturbance of acid-base balance in the cow: causes, consequences and treatment. *Veterinarnaya patologiya*. 2017; 1 (59): 53–58. eLIBRARY ID: 29737143. (in Russian)
- Melnik N. V., Samuylenko A. Ya., Melnik R. N., Grin S. A., Klyuchina V. I., Nikitin A. I., et al. Necrobacteriosis in animals. Treatment and prevention. Ed. by RAS Academician A. Ya. Samuylenko. Krasnodar: Kuban SAU; 2018; 279 p. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_36686875_13270852.pdf. (in Russian)
- Alekhin Yu. N., Zhukov M. S., Lebedeva A. Yu. Functional state of proventriculi at different stages of bronchopneumonia development and

during post-treatment period in calves. *Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya*. 2016; 11: 13–19. eLIBRARY ID: 27257704. (in Russian)

12. Zolotarev A. I., Chernitskiy A. E., Retsky M. I. Acid-base status and blood gas composition in calves with bronchitis. *Veterinariya*. 2013; 7: 47–52. eLIBRARY ID: 19403634. (in Russian)

13. Mager S. N., Dementieva E. S. Physiology of immune system: the study book. Saint Petersburg: Lan'; 2014. 192 p. (in Russian)

14. Male D., Brostoff J., Roth D., Roitt I. Immunology. 7th ed. Elsevier Ltd; 2006. 564 p.

15. Barashkin M. I., Petrova O. G. Features of the epizootiology of infectious diseases of the distal extremities of cattle in industrial technology of content. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2016; 3 (145): 27–31. eLIBRARY ID: 25797139. (in Russian)

Поступила 30.04.2021

Принята в печать 26.07.2021

Received on 30.04.2021

Approved for publication on 26.07.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Алексеев Анатолий Дмитриевич, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры инфекционной и незаразной патологии ФГБОУ ВО Уральский ГАУ, г. Екатеринбург, Россия.

Петрова Ольга Григорьевна, доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры инфекционной и незаразной патологии ФГБОУ ВО Уральский ГАУ, г. Екатеринбург, Россия.

Барашкин Михаил Иванович, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии, акушерства и микробиологии ФГБОУ ВО Уральский ГАУ, г. Екатеринбург, Россия.

Мильштейн Игорь Маркович, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры хирургии, акушерства и микробиологии ФГБОУ ВО Уральский ГАУ, г. Екатеринбург, Россия.

Москвин Владислав Дмитриевич, аспирант кафедры инфекционной и незаразной патологии ФГБОУ ВО Уральский ГАУ, г. Екатеринбург, Россия.

Anatoliy D. Alekseev, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), Associate Professor, Department of Infectious and Non-infectious Pathology, FSBEI HE Ural SAU, Ekaterinburg, Russia.

Olga G. Petrova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Professor of the Department of Infectious and Non-infectious Pathology, FSBEI HE Ural SAU, Ekaterinburg, Russia.

Mikhail I. Barashkin, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Head of the Department of Surgery, Obstetrics and Microbiology, FSBEI HE Ural SAU, Ekaterinburg, Russia.

Igor M. Milshtein, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), Associate Professor, Department of Surgery, Obstetrics and Microbiology, FSBEI HE Ural SAU, Ekaterinburg, Russia.

Vladislav D. Moskvina, Post-Graduate Student, Department of Infectious and Non-infectious Pathology, FSBEI HE Ural SAU, Ekaterinburg, Russia.



Повышение иммунного статуса у поросят интерферонсодержащими препаратами при специфической профилактике актинобациллезной плевропневмонии

А. Г. Шахов¹, Л. Ю. Сашнина², В. А. Прокулевич³, Ю. Ю. Владимирова⁴, М. И. Адодина⁵

^{1,2,4,5} ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии» (ФГБНУ «ВНИВИПФиТ»), г. Воронеж, Россия

³ Белорусский государственный университет (БГУ), г. Минск, Республика Беларусь

¹ ORCID 0000-0002-6177-8858, e-mail: a.g.shakhov@mail.ru

² ORCID 0000-0001-6477-6156, e-mail: lyu.sashnina@mail.ru

³ ORCID 0000-0003-3462-3540, e-mail: prokulevichv@bsu.by

⁴ ORCID 0000-0001-8888-7264, e-mail: uliavcoach379@gmail.com

⁵ ORCID 0000-0002-1791-0866, e-mail: mari.adodina@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Специфическая профилактика является одним из наиболее эффективных методов борьбы с инфекционными заболеваниями, наносящими значительный экономический ущерб промышленным свиноводческим хозяйствам, к числу которых относится актинобациллезная плевропневмония свиней. Для повышения эффективности вакцинопрофилактики применяются различные иммуномодулирующие средства, отличающиеся по происхождению и механизму действия. В статье представлены результаты изучения влияния препаратов биферона-С и простимула, содержащих видоспецифические рекомбинантные интерфероны, на иммунный статус поросят при специфической профилактике актинобациллезной плевропневмонии. Исследования проведены на клинически здоровых поросятах 30–35-суточного возраста, иммунизированных вакциной Ingelvac® APPX (Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Германия). Установлено, что применение биферона-С и простимула одновременно с введением вакцины сопровождается повышением иммунного статуса животных, проявляющимся увеличением по сравнению с базовым вариантом содержания в сыворотке крови γ -глобулинов на 34,6 и 53,7% (при назначении простимула и β -глобулинов – на 10,1%), общих иммуноглобулинов – на 32,8 и 37,8%, крупных циркулирующих иммунных комплексов – на 37,5 и 52,6%, менее значимым увеличением комплексов мелких размеров и снижением в результате этого коэффициента патогенности на 5,4 и 12,4% соответственно. Исследование напряженности поствакцинального иммунитета у поросят показало, что уровень специфических антител к антигену возбудителя актинобациллезной плевропневмонии повысился в 3,8 раза, а при введении вакцины в сочетании с бифероном-С и простимулом – в 4,0 и 4,9 раза соответственно. Применение простимула сопровождалось более существенным повышением иммунного статуса у поросят, обусловленным наличием в его составе кроме рекомбинантного цитокина первого типа витаминов А, Е и С, обладающих антиоксидантными свойствами, повышающих эффективность интерферонов, естественную резистентность и специфический иммунитет.

Ключевые слова: актинобациллезная плевропневмония, поросята, специфическая профилактика, вакцина, иммунный статус, биферон-С, простимул, витамины А, Е и С

Благодарность: Работа выполнена за счет средств ФГБНУ «ВНИВИПФиТ» по теме «Разработка методических подходов к профилактике и терапии иммунодефицитных состояний у свиней в критические периоды выращивания».

Для цитирования: Шахов А. Г., Сашнина Л. Ю., Прокулевич В. А., Владимирова Ю. Ю., Адодина М. И. Повышение иммунного статуса у поросят интерферонсодержащими препаратами при специфической профилактике актинобациллезной плевропневмонии. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 197–202. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-197-202.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Сашнина Лариса Юрьевна, доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией иммунологии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», 394087, Россия, г. Воронеж, ул. Ломоносова, 1146, e-mail: lyu.sashnina@mail.ru.

Immune status improvement in piglets through the use of interferon-containing products during specific prevention of porcine pleuropneumonia

A. G. Shakhov¹, L. Yu. Sashnina², V. A. Prokulevich³, Yu. Yu. Vladimirova⁴, M. I. Adodina⁵

^{1,2,4,5} Federal State Budgetary Scientific Institution "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy" (FSBSI "ARVRIPP&T"), Voronezh, Russia

³ Belarusian State University (BSU), Minsk, Republic of Belarus

¹ ORCID 0000-0002-6177-8858, e-mail: a.g.shakhov@mail.ru

² ORCID 0000-0001-6477-6156, e-mail: l.yu.sashnina@mail.ru

³ ORCID 0000-0003-3462-3540, e-mail: prokulevichv@bsu.by

⁴ ORCID 0000-0001-8888-7264, e-mail: uliavcoach379@gmail.com

⁵ ORCID 0000-0002-1791-0866, e-mail: mari.adodina@mail.ru

SUMMARY

Specific prevention is one of the most effective methods for the control of infectious diseases causing considerable economic damage to commercial pig farms, among which is porcine pleuropneumonia. In order to improve the effectiveness of preventive vaccination, various immunomodulators that differ in their origin and mechanism of action are used. The paper presents the results of the study of the effect of such products as biferon-S and prostimul containing species-specific recombinant interferons on the immune status of piglets during specific prevention of porcine pleuropneumonia. Tests were carried out in clinically healthy 30–35-day-old piglets immunized with Ingelvac® APPX vaccine (Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Germany). It was found that the use of biferon-S and prostimul together with the vaccine administration is accompanied by immune status improvement in the animals, which is manifested as an increase, in comparison with vaccinated animals that received no interferon-containing products (base case), in serum levels of γ -globulins – by 34.6 and 53.7% (in case of prostimul and β -globulins – by 10.1%), total immunoglobulins – by 32.8 and 37.8%, large circulating immune complexes – by 37.5 and 52.6%, a less significant increase in the levels of small complexes and, as a result, pathogenicity coefficient reduction by 5.4 and 12.4%, respectively. Tests for post-vaccination immunity levels in piglets showed a 3.8-fold increase in the levels of specific antibodies against the antigen of porcine pleuropneumonia agent, and in case of the vaccine administration in combination with biferon-S and prostimul – a 4.0-fold and 4.9-fold increase, respectively. The use of prostimul was accompanied by a more considerable improvement of immune status in the piglets, and this is attributable to the fact that vitamins A, E and C, which have antioxidant properties and improve the effectiveness of interferons, natural resistance and specific immunity, are included in its composition in addition to recombinant type 1 cytokine.

Keywords: porcine pleuropneumonia, piglets, specific prevention, vaccine, immune status, biferon-S, prostimul, vitamins A, E and C

Acknowledgements: The study was funded by FSBSI “ARVRIPP&T” within the framework of “Development of methodological approaches to prevention and treatment of immunodeficiency disorders in pigs during the critical periods in raising” research work.

For citation: Shakhov A. G., Sashnina L. Yu., Prokulevich V. A., Vladimirova Yu. Yu., Adodina M. I. Immune status improvement in piglets through the use of interferon-containing products during specific prevention of porcine pleuropneumonia. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 197–202. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-197-202.

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

For correspondence: Larisa Yu. Sashnina, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Head of Immunology Laboratory, FSBSI “ARVRIPP&T”, 394087, Russia, Voronezh, ul. Lomonosova, 114b, e-mail: l.yu.sashnina@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Актинобациллезная плевропневмония свиней, возбудителем которой является *Actinobacillus pleuropneumoniae*, имеет большое экономическое и эпизоотологическое значение для промышленных свиноводческих хозяйств [1–4]. *A. pleuropneumoniae* – один из наиболее значимых респираторных бактериальных патогенов свиней, может вызывать как моноинфекцию, так и в ассоциации с вирусами гриппа, репродуктивно-респираторного синдрома свиней, микоплазмами играть ведущую роль в развитии комплекса респираторных болезней свиней [4, 5]. Специфическая профилактика актинобациллезной плевропневмонии является основным методом контроля инфекции [4].

Плановая вакцинация поросят против актинобациллезной плевропневмонии проводится в возрасте 3–4 недель и попадает на конец подсосного периода содержания, когда на фоне физиологического иммунодефицита или связанной с отъемом стресс-реакции происходит активация пероксидного окисления липидов, снижение антиоксидантной защиты, уровня гуморальных и клеточных факторов неспецифической резистентности организма [6, 7].

Регистрируемое перед вакцинацией иммунодефицитное состояние организма негативно сказывается на формировании специфического иммунитета, для повышения которого при иммунизации свиноматок и поросят против эшерихиоза и сальмонеллеза с положительным эффектом испытаны лигфол, лигавирин, селекор, обладающие адаптогенными и иммуномодулирующими свойствами [8, 9].

При вакцинации с целью повышения уровня и длительности сохранения антител эффективны такие иммуномодуляторы, как сальмозан, гликопин, иммунофан, ронколейкин, полириботан и др. [10].

Изучая возможность применения рекомбинантных цитокинов в качестве адъювантов при вакцинации, А. С. Симбирцев и соавт. установили, что наибольшей адъювантной активностью обладает интерлейкин-1 при иммунизации против вирусного гепатита В, нивелируя отрицательное влияние биопрепарата на функциональную активность нейтрофилов и способствуя повышению титра специфических антител [11].

Выявлено положительное влияние биферона-С, содержащего α - и γ -интерфероны свиньи рекомбинантные, на формирование специфического иммунитета при вакцинации против цирковироза [12],

колибактериоза [13], цирковирусной инфекции и микоплазмоза [14].

Цель исследования – изучить влияние биферона-С и простимула на иммунный статус поросят при специфической профилактике актинобациллезной плевропневмонии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в 2020 г. на одном из промышленных свиноводческих комплексов Тамбовской области, неблагополучном по актинобациллезной плевропневмонии с 2016 г. в результате ввода в стадо ремонтных свинок-бактерионосителей *A. pleuropneumoniae* второго серотипа. Для опыта были подобраны животные из технологической группы поросят ($n = 1300$), одновременно переведенных в цех доращивания. Масса тела животных составляла $9,0 \pm 0,94$ кг. Исследования проводили на 150 клинически здоровых поросятах 30–35-суточного возраста без разделения по полу, из которых сформировали 3 группы по 50 голов в каждой. Животных контрольной группы (базовый вариант) иммунизировали вакциной Ingelvac® APPX (Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH, Германия) в дозе 2 мл двукратно с интервалом 14 сут, поросятам первой опытной группы одновременно с введением вакцины в качестве адьюванта применяли биферон-С в дозе 0,1 мл/кг, второй опытной – по аналогичной схеме простимул в той же дозе.

Вакцина Ingelvac® APPX изготовлена из культур *A. pleuropneumoniae* серотипов 1, 2, 3, 4, 5, 7 с токсоидами АрхI, АрхII, АрхIII, инактивированных формалином (0,2% по объему), с добавлением гидроокиси алюминия (0,5% по объему) и изотонического раствора хлорида натрия.

Биферон-С содержит не менее $1,0 \times 10^4$ ТЦД₅₀/см³ суммарной антивирусной активности смеси белков α - и γ -интерферонов свинных рекомбинантных в растворе с добавлением стабилизаторов.

Простимул в качестве действующего вещества содержит рекомбинантный цитокин, аскорбиновую кислоту, витамины А, Е и С, бензоат натрия, натрий сернистокислый, этилендиаминтетрауксусную кислоту, неионогенный растворитель, глицерин и воду.

Производитель препаратов биферон-С и простимул – ООО «Научно-производственный центр «ПробиоТех» (Республика Беларусь).

За животными в течение 2 месяцев вели клинические наблюдения.

У поросят ($n = 6$) из каждой группы до введения вакцины и препаратов (фон) и спустя 14 сут после их повторного применения отбирали кровь для проведения исследований в Научно-исследовательском центре ФГБНУ «ВНИВИПФиТ».

В сыворотке крови свиней определяли содержание общего белка, белковых фракций, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК): крупных (3%), средних (3,5%) и мелких (4%) согласно «Методическим рекомендациям по оценке и коррекции иммунного статуса животных» [15], количество общих иммуноглобулинов (Ig) [16], коэффициент патогенности ЦИК (отношение С4/С3) [17]. Титры антител к *A. pleuropneumoniae* определяли с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) с последующим учетом результатов на спектрофотометре «Униплан-ТМ» в соответствии с наставлением к диагностическому набору ID Screen® APP Screening Indirect (Франция).

Статистический анализ результатов исследования проводили с использованием программы Statistica v 6.1, оценку достоверности отличий – по t -критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Клинический статус поросят в период проведения опыта был в пределах нормы.

При фоновых биохимических исследованиях достоверных различий в содержании общего белка, β -глобулинов, γ -глобулинов и общих иммуноглобулинов у поросят обеих опытных групп не обнаружено (табл. 1).

У животных контрольной группы регистрировали более низкое, чем у поросят опытных групп, содержание альбуминов и наиболее низкий коэффициент патогенности ЦИК, а уровни α -глобулинов и крупных ЦИК были выше.

У поросят первой опытной группы содержание крупных и средних ЦИК было меньше, чем у животных второй опытной и контрольной групп, в результате чего коэффициент их патогенности был наиболее высоким.

Таблица 1
Биохимические показатели крови поросят

Table 1
Biochemical blood parameters in piglets

Показатели	Группы		
	Контрольная	Первая опытная	Вторая опытная
До вакцинации			
Белок, г/л	49,50 ± 1,49	51,10 ± 1,45	49,90 ± 0,65
Альбумины, %	47,90 ± 1,34	52,00 ± 2,93	54,40 ± 0,79
Глобулины: %			
α	16,90 ± 0,94	13,10 ± 1,26	13,30 ± 0,45
β	21,90 ± 0,67	21,30 ± 0,95	19,90 ± 0,99
γ	13,30 ± 0,86	13,60 ± 1,09	12,30 ± 0,45
Общие иммуноглобулины, мг/мл	25,60 ± 1,23	23,80 ± 1,41	22,50 ± 0,68
ЦИК, 3,5% мг/мл	0,370 ± 0,029	0,26 ± 0,04	0,430 ± 0,037
ЦИК, 3,0% мг/мл	0,280 ± 0,001	0,16 ± 0,01	0,19 ± 0,02
ЦИК, 4,0% мг/мл	0,37 ± 0,03	0,37 ± 0,02	0,43 ± 0,06
С4/С3	1,32 ± 0,14	2,21 ± 0,009	2,09 ± 0,18
После вакцинации			
Белок, г/л	57,50 ± 0,81**	57,60 ± 1,23**	59,10 ± 1,43***
Альбумины, %	46,10 ± 0,88	48,80 ± 1,37	47,60 ± 0,97***
Глобулины: %			
α	15,20 ± 0,53	11,50 ± 0,45	11,80 ± 0,73
β	21,90 ± 0,46	21,40 ± 0,57	21,90 ± 0,62
γ	16,90 ± 0,84*	18,30 ± 0,83**	18,90 ± 0,52***
Общие иммуноглобулины, мг/мл	30,90 ± 0,78**	31,60 ± 0,70***	31,00 ± 0,69***
ЦИК, 3,5% мг/мл	0,290 ± 0,023*	0,230 ± 0,027	0,240 ± 0,036**
ЦИК, 3,0% мг/мл	0,36 ± 0,02*	0,22 ± 0,02*	0,29 ± 0,01**
ЦИК, 4,0% мг/мл	0,59 ± 0,03***	0,50 ± 0,02**	0,53 ± 0,02
С4/С3	1,76 ± 0,11*	2,09 ± 0,15	1,83 ± 0,09

* $p < 0,05$, ** $p < 0,005$, *** $p < 0,0005$ – по отношению к фоновым показателям (against baseline values).

Таблица 2
Показатели специфического иммунитета поросят

Table 2
Specific immunity parameters in piglets

Показатели	Титры антител к <i>A. pleuropneumoniae</i>		
	контрольная группа	первая опытная группа	вторая опытная группа
До вакцинации	11,90 ± 2,10	12,11 ± 2,96	9,40 ± 2,23
После вакцинации	45,10 ± 3,82*	48,90 ± 2,49*	46,10 ± 2,21*

* $p < 0,0001$ – по отношению к фоновым показателям (against baseline values).

С возрастом под влиянием вакцинации и интерферонсодержащих препаратов в биохимическом статусе животных произошли изменения (табл. 1).

Содержание общего белка у поросят контрольной группы увеличилось на 16,2%, первой опытной – на 12,7%, второй опытной группы – на 18,4%, что свидетельствует об активации белоксинтезирующей функции печени, особенно у животных, которых вакцинировали в сочетании с простимулом, содержащим в своем составе витамины А, Е и С, обладающие антиоксидантными свойствами.

Существенные изменения произошли в протеинограмме вакцинированных животных, особенно в комбинации с бифероном-С и простимулом. В контроле отмечали снижение содержания альбуминов на 3,8% и α -глобулинов на 10,1% и повышение количества γ -глобулинов, содержащих преимущественно антигена, на 27,1%. У поросят первой и второй опытных групп содержание альбуминов понизилось на 6,2 и 12,5%; α -глобулинов – на 12,2 и 11,3%; а γ -глобулинов повысилось на 34,6 и 53,7% соответственно. Уровень β -глобулинов, содержащих компоненты комплемента и часть иммуноглобулинов, у животных контрольной и первой опытной групп практически не отличался от фоновых показателей, а у поросят, иммунизированных в сочетании с простимулом, повысился на 10,1%.

Отмеченные изменения в протеинограмме у вакцинированных, а также иммунизированных с одновременным введением препаратов на основе интерферонов животных свидетельствуют об иммунной перестройке организма, наиболее выраженной при введении вакцины совместно с простимулом, проявляющейся значительным увеличением количества γ -глобулинов и повышением уровня β -глобулинов, обеспечивающих гуморальную защиту.

У вакцинированных животных контрольной группы отмечали увеличение уровня общих иммуноглобулинов на 20,7%, а при введении вакцины в сочетании с бифероном-С и простимулом – на 32,8 и 37,8% соответственно, что свидетельствует о существенном повышении гуморальной защиты поросят, особенно при проведении специфической профилактики в комплексе с интерферонсодержащими препаратами, преимущественно с простимулом.

О положительном влиянии иммуномодулирующих средств на иммунный статус животных при вакцинации их против актинобациллезной плеввропневмонии свидетельствуют результаты исследований циркулирующих иммунных комплексов, являющихся продуктом

реакций антигена, антител и комплемента и играющих большую роль в поддержании гомеостаза организма.

Так, у поросят контрольной группы, по сравнению с фоновыми показателями, регистрировали значительное повышение количества мелких ЦИК – на 59,5%, а также крупных – на 28,6% и снижение уровня средних ЦИК на 21,6%. При этом коэффициент патогенности ЦИК (отношение С4/С3) увеличился на 33,3%, что, по-видимому, связано с высокой антигенной нагрузкой на организм поросят.

В группе животных, иммунизированных в сочетании с бифероном-С, отмечали более существенное, чем в контроле, увеличение содержания крупных ЦИК (на 37,5%), менее выраженное повышение количества мелких (на 35,1%) и снижение уровня средних циркулирующих иммунных комплексов – на 11,5%, при этом коэффициент их патогенности по сравнению с фоновыми показателями снизился на 5,4%.

У поросят второй опытной группы, вакцинированных с одновременным введением простимула, содержание крупных ЦИК увеличилось на 52,6%, что значительно больше аналогичных показателей животных первой опытной и контрольной групп, а количество ЦИК средних размеров уменьшилось на 44,2% и менее существенно повысился уровень мелкодисперсных ЦИК (на 23,3%), в результате чего коэффициент их патогенности снизился на 12,4%.

О повышении гуморальной защиты поросят после вакцинации, и особенно в комплексе с препаратами на основе интерферонов, свидетельствуют результаты серологических исследований, представленные в таблице 2.

Установлено, что титр специфических антител к антигену *A. pleuropneumoniae* у поросят контрольной группы по сравнению с фоном повысился в 3,8 раза, при введении вакцины в сочетании с бифероном-С и простимулом – в 4,0 и 4,9 раза соответственно.

Таким образом, применение интерферонсодержащих препаратов при специфической профилактике актинобациллезной плеввропневмонии сопровождается повышением иммунного статуса у поросят, обусловленным наличием в их составе интерферонов свинных рекомбинантных и ряда вспомогательных веществ.

Входящий в состав биферона-С α -интерферон проявляет иммуномодулирующие свойства, повышая активность естественных киллеров, Т-хелперов, фагоцитов, интенсивность дифференцировки В-лимфоцитов [18, 19]. Выраженным иммуномодулирующим действием обладает γ -интерферон, активируя макрофаги, цитотоксические Т-лимфоциты, натуральные киллеры [18, 20, 21].

Содержащиеся в составе простимула α - и β -интерфероны обладают иммунорегуляторным действием: модулируют продукцию антител, повышают клеточную цитотоксичность Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, ингибируют пролиферативную активность лимфоцитов, Т-клеточную супрессию и способствуют преимущественной дифференцировке Т-хелперов в Th1-лимфоциты [22].

Витамины А, Е и С, входящие в состав простимула, повышают антиоксидантный статус организма, сдерживая накопление продуктов перекисного окисления липидов [23, 24], оказывают антиокислительное действие на клетки иммунной системы, предохраняя от кислородзависимых типов апоптоза [25, 26], а так-

же потенцируют эффективность интерферонов [23], в результате чего препарат в большей степени, чем биферон-С, повышает иммунный статус поросят при специфической профилактике актинобациллезной плевропневмонии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что одновременное применение биферона-С и простимула с вакциной против актинобациллезной плевропневмонии сопровождается повышением иммунного статуса у поросят, проявляющимся увеличением, по сравнению с базовым вариантом (вакцинация без препаратов), содержания в сыворотке крови γ -глобулинов, содержащих в своем составе кроме рекомбинантного цитокина витамины А, Е и С, которые обладают антиоксидантными свойствами, потенцируют эффективность интерферонов, повышают естественную резистентность и специфический иммунитет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 4, 14, 19–21 см. REFERENCES)

- Сидоров М. А., Skorodumov D. И. Гемофилезы животных. М.: Агропромиздат; 1986. 174 с.
- Лебедев Н. В., Потехин А. В., Фроловцева А. А. Актинобациллезная плевропневмония свиней: диагностика, профилактика и меры борьбы. *Ветеринария сегодня*. 2012; 3 (3): 24–30. eLIBRARY ID: 22480810.
- Потехин А. В., Ковалишин В. Ф. Актинобациллезная плевропневмония свиней: диагностика, профилактика и меры борьбы. *Ветеринария сегодня*. 2014; 3 (10): 18–29. eLIBRARY ID: 22445539.
- Орлянкин Б. Г., Алипер Т. И., Мишин А. М. Инфекционные респираторные болезни свиней: этиология, диагностика и профилактика. *Свиноводство*. 2010; 3: 67–69. eLIBRARY ID: 17711236.
- Рецкий М. И., Бузлама В. С., Шахов А. Г. Значение антиоксидантного статуса в адаптивной гетерогенности и иммунологической резистентности животных. *Ветеринарная патология*. 2003; 2 (6): 63–65. eLIBRARY ID: 9164252.
- Шахов А. Г., Сашнина Л. Ю., Владимирова Ю. Ю., Тараканова К. В. Гемоморфологический, биохимический и иммунный статус у поросят при стрессе, вызванном отъемом их от свиноматок и переводом на доращивание. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. 2019; 3: 182–186. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2019.3.182.
- Николаева О. Н., Андреева А. В. Динамика показателей гуморального иммунитета при профилактике ассоциативных инфекций молодняка сельскохозяйственных животных. *Российский электронный научный журнал*. 2014; 8 (14): 186–193. eLIBRARY ID: 26494610.
- Шахов А. Г., Рецкий М. И., Масьянов Ю. Н., Бригадиров Ю. Н., Заико А. М. Использование иммуномодуляторов и антиоксидантов для повышения эффективности иммунизации свиней. *Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных: материалы Международной научно-практической конференции (16–17 мая 2006 г.)*. М.: Изограф; 2006; 522–525. eLIBRARY ID: 41447034.
- Деева А. В., Мехдиханов Г. Г., Соколов В. Д., Белоусова Р. В. Применение иммуномодуляторов продуктивным животным. *Ветеринария*. 2008; 6: 8–12. eLIBRARY ID: 11149494.
- Симбирцев А. С., Петров А. В., Пигарева Н. В., Николаев А. Т. Новые возможности применения рекомбинантных цитокинов в качестве адьювантов при вакцинации. *Биопрепараты*. 2011; 1 (41): 16–20. eLIBRARY ID: 20369106.
- Кудин К. В., Кудина И. В., Прокулевич В. А. Влияние препарата «Биферон-С» на основе рекомбинантных цитокинов на рост, развитие и иммунизацию поросят к ЦВС-2. *Биотехнология: достижения и перспективы развития: сборник материалов III Международной научно-практической конференции (22–23 ноября 2018 г.)*. Пинск: Полесский государственный университет; 2018; 78–81. eLIBRARY ID: 36624367.
- Зайцев В. В., Билецкий М. О., Билецкий О. Р., Зайцева А. В. Влияние альфа- и гамма-интерферонов рекомбинантных свиных на иммуноген-

ность колибактериозных антигенов. *Ученые записки УО ВГАВМ*. 2018; 54 (1): 9–13. eLIBRARY ID: 34999020.

15. Шахов А. Г., Масьянов Ю. Н., Рецкий М. И., Бригадиров Ю. Н., Ануфриев А. И., Беляев В. И. и др. Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных. В кн.: *Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Ч. III. Методы исследований по проблемам незаразной патологии у продуктивных животных*. М.: ПАСХН; 2007; 216–292.

16. Кондрахин И. П., Архипов А. В., Левченко В. И., Таланов Г. А., Фролова Л. А., Новиков В. Э. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник. Под общ. ред. И. П. Кондрахина М.: КолосС; 2004. 520 с.

17. Скибо Ю. В., Курмаева Н. Ш., Цибулькина В. Н., Мустафин И. Г., Абрамова З. И. Характеристика циркулирующих иммунных комплексов сыворотки больных атопической бронхиальной астмой разной степени тяжести. *Казанский медицинский журнал*. 2013; 94 (5): 744–748. DOI: 10.17816/KMJ1934.

18. Сологуб Т. В., Цветков В. В., Деева Э. Г. Интерферон гамма-цитокин с противовирусной, иммуномодулирующей и противоопухолевой активностью. *Российский медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова*. 2014; 22 (3): 56–60. DOI: 10.17816/PAVLOVJ2014356-60.

22. Кетлинский С. А., Симбирцев А. С. Цитокины. СПб.: Фолиант; 2008. 552 с.

23. Малиновская В. В. Онтогенез системы интерферона и проблемы терапии в неонатальном периоде. В сб.: *Интерферон-2011*. Под ред. акад. РАМН, проф. Ф. И. Ершова и проф. А. Н. Наровлянского. М.; 2012; 35–51. Режим доступа: <http://interferons.ru/downloads/glava1.pdf>.

24. Гаврилова О. А. Особенности процесса перекисного окисления липидов в норме и при некоторых патологических состояниях у детей (обзор литературы). *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2 (4): 15–22. DOI: 10.12737/article_59fad50f919f18.64819381.

25. Мартынова Е. А., Морозов И. А. Роль питания в поддержании функциональной активности иммунной системы и развитии полноценного иммунного ответа. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. Приложение № 14. Современные проблемы физиологии и патологии пищеварения: материалы XVI сессии Академической школы-семинара имени А. М. Уголева (Пушино-на-Оке, 14–17 мая 2001 г.)*. 2001; 11 (4): 28–38. Режим доступа: <https://gastroportal.ru/nauchnye-uchrezhdeniya-shkoly/akademicheskaya-shkola-seminar-im-a-m-ugoleva/pitanie-i-immunitet-rol-pitaniya-v-podderzhanii-funktionalnoy-aktivnosti-immunnoy-sistemy-i-razviti-i-polnotsenno-go-immunno-go-otveta.html>.

26. Стрельченко Е. А. Исследование влияния витамина С на физиологические системы человека. *Научные труды КубГУ*. 2019; 1: 319–330. eLIBRARY ID: 36944395.

REFERENCES

- Sidorov M. A., Skorodumov D. I. Haemophilus infections in animals [Gemoflezy zhivotnyh]. M.: Agropromizdat; 1986. 174 p. (in Russian)
- Lebedev N. V., Potekhin A. V., Frolovtsseva A. A. Porcine *Actinobacillus pleuropneumonia*: diagnosis prophylaxis and control measures. *Veterinary Science Today*. 2012; 3 (3): 24–30. eLIBRARY ID: 22480810. (in Russian)
- Potekhin A. V., Kovalishin V. F. *Actinobacillosis pleuropneumonia* (APP): diagnosis, prevention and control measures. *Veterinary Science Today*. 2014; 3 (10): 18–29. eLIBRARY ID: 22445539.
- Gottschalk M., Broes A. *Actinobacillosis*. In: *Diseases of Swine*. Eds. J. J. Zimmerman, L. A. Karriker, A. Ramirez, K. J. Schwartz, G. W. Stevenson, J. Zhang. 11th ed. New York: John Wiley&Sons; 2019; Chapter 48: 749–766. DOI: 10.1002/9781119350927.ch48.
- Orlyankin B. G., Aliper T. I., Mishin A. M. Porcine infectious respiratory diseases: etiology, diagnosis and prevention [Infekcionnye respiratornyye bolezni sviney: etiologiya, diagnostika i profilaktika]. *Pig-Breeding*. 2010; 3: 67–69. eLIBRARY ID: 17711236. (in Russian)
- Retsky M. I., Buzlama V. S., Shakhov A. G. The role of antioxidant status in adaptive heterogeneity and immune resistance in animals [Znachenie antioksidantnogo statusa v adaptivnoy geterogenosti i immunologicheskoy rezistentnosti zhivotnyh]. *Veterinarnaya patologiya*. 2003; 2 (6): 63–65. eLIBRARY ID: 9164252. (in Russian)
- Shakhov A. G., Sashnina L. Yu., Vladimirova Yu. Yu., Tarakanova K. V. Haemomorphological, biochemical and immune status in piglets under stress, caused by weaning from sows and crossover to nursery. *Issues of Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2019; 3: 182–186. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2019.3.182. (in Russian)
- Nikolaeva O. N., Andreeva A. V. The dynamics of indicators of humoral immunity at prevention of associative infections of young growth of farm animals. *Russian Electronic Scientific Journal*. 2014; 8 (14): 186–193. eLIBRARY ID: 26494610. (in Russian)
- Shakhov A. G., Retsky M. I., Masyanov Yu. N., Brigadirov Yu. N., Zaiko A. M. The use of immunomodulators and antioxidants to improve the

- effectiveness of immunization in pigs [Ispol'zovanie immunomodulyatorov i antioksidantov dlya povysheniya effektivnosti immunizatsii sviney]. *Topical Issues of Animal Infectious Pathology and Immunology: Proceedings of the International Research-to-Practice Conference (May 16–17, 2006)*. M.: Izograf; 2006; 522–525. eLIBRARY ID: 41447034. (in Russian)
10. Deyeva A. V., Mekhdikhanov G. G., Sokolov V. D., Belousova R. V. The use of immunomodulators in production animals [Primenenie immunomodulyatorov produktivnym zivotnym]. *Veterinariya*. 2008; 6: 8–12. eLIBRARY ID: 11149494. (in Russian)
11. Simbirtsev A. S., Petrov A. V., Pigareva N. V., Nikolaev A. T. New opportunities for using recombinant cytokines as adjuvants for vaccination. *Biopreparats (Biopharmaceuticals)*. 2011; 1 (41): 16–20. eLIBRARY ID: 20369106. (in Russian)
12. Kudin K. V., Kudina I. V., Prokulevich V. A. The effect of recombinant cytokine-based product Biferon-S on the growth, development and immunization of piglets against PCV-2 [Vliyaniye preparata «Biferon-S» na osnovе rekombinantnykh citokinov na rost, razvitiye i immunizatsiyu porosyat k CVS-2]. *Biotechnology: Advances and Development Prospects: Proceedings of the III International Research-to-Practice Conference (November 22–23, 2018)*. Pinsk: Polesky State University; 2018; 78–81. eLIBRARY ID: 36624367. (in Russian)
13. Zaitsev V. V., Biletsky M. O., Biletsky O. R., Zaitseva A. V. The effect of porcine recombinant alfa- and gamma-interferons on the immunogenicity of *Escherichia coli* antigens. *Uchenye zapiski Educational Establishment "Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine"*. 2018; 54 (1): 9–13. eLIBRARY ID: 34999020. (in Russian)
14. Shakhov A., Shabunin S., Zheyne M. Correction of cellular immunity with biferon-C in piglets in case of specific prevention of circovirus and mycoplasmosis. *E3S Web of Conferences DAIC-2020*. 2020; 222:02056. DOI: 10.1051/e3sconf/202022202056.
15. Shakhov A. G., Masyanov Yu. N., Retsky M. I., Brigadirov Yu. N., Anufriyev A. I., Belyayev V. I., et al. Methodical recommendations for immune status evaluation and improvement in animals [Metodicheskie rekomendatsii po ocenke i korektsii immunnogo statusa zivotnykh]. In: *New Methods of Research on Veterinary Medicine Issues. P. III. Methods of Research on the Issues of Non-Contagious Pathology in Production Animals*. M.: RAAS; 2007; 216–292. (in Russian)
16. Kondrakhin I. P., Arkhipov A. V., Levchenko V. I., Talanov G. A., Frolova L. A., Novikov V. E. Veterinary clinical laboratory diagnostic methods [Metody veterinarnoy klinicheskoy laboratornoy diagnostiki]: Reference book. Under general editorship of I. P. Kondrakhin. M.: KolosS; 2004. 520 p. (in Russian)
17. Skibo Y. V., Kurmaeva N. S., Tsibulkina V. N., Mustafin I. G., Abramova Z. I. The characteristics of serum circulating immune complexes of patients with atopic asthma with different severity degree. *Kazan Medical Journal*. 2013; 94 (5): 744–748. DOI: 10.17816/KMJ1934. (in Russian)
18. Sologub T. V., Tsvetkov V. V., Deeva E. G. Interferon gamma-cytokine with antiviral, immunomodulatory and antitumor action. *I. P. Pavlov Russian Medical Biological Herald*. 2014; 22 (3): 56–60. DOI: 10.17816/PAVLOVJ2014356-60. (in Russian)
19. Harrison G. A., McNicol K. A., Deane E. M. Type I interferon genes from the egg-laying mammal, *Tachyglossus aculeatus* (short-beaked echidna). *Immunol. Cell Biol.* 2004; 82 (2): 112–118. DOI: 10.1046/j.0818-9641.2004.01230.x.
20. Ike K., Uchida Y., Nakamura T., Imai S. Induction of interferon-gamma (IFN-gamma) and T helper 1 (Th1) immune response by bitter melon extract. *J. Vet. Med. Sci.* 2005; 67 (5): 521–524. DOI: 10.1292/jvms.67.521.
21. Laouar Y., Sutterwala F. S., Gorelik L., Flavell R. A. Transforming growth factor-beta controls T helper type 1 cell development through regulation of natural killer cell interferon-gamma. *Nat. Immunol.* 2005; 6 (6): 600–607. DOI: 10.1038/ni1197.
22. Ketlinsky S. A., Simbirtsev A. S. Cytokines [Citokiny]. St. Petersburg: Foliant; 2008. 552 p. (in Russian)
23. Malinovskaya V. V. Ontogeny of interferon system and issues of therapy in neonatal period [Ontogenez sistemy interferona i problemy terapii v neonatal'nom periode]. In: *Interferon-2011*. Ed. by RAMS Member, Prof. F. I. Yershov and Prof. A. N. Narovlyansky. M.; 2012; 35–51. Available at: <http://interferons.ru/downloads/glava1.pdf>. (in Russian)
24. Gavrilova O. A. Features of lipid peroxidation process in normal conditions and in various pathological conditions in children (review of literature). *Acta Biomedica Scientifica*. 2017; 2 (4): 15–22. DOI: 10.12737/article_59fad50f919f18.64819381. (in Russian)
25. Martynova Ye. A., Morozov I. A. The role of nutrition in the maintenance of the functional activity of immune system and development of adequate immune response [Rol' pitaniya v podderzhanii funktsional'noj aktivnosti immunnogo sistema i razvitiya polnocennogo immunnogo otveta]. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. Annex No. 14. Current Issues of Digestive Physiology and Pathology: Proceedings of the XVI Session of the Academic School-Workshop named after A. M. Ugolev (Puschino-on-Oka, May 14–17, 2001)*. 2001; 11 (4): 28–38. Available at: <https://gastroportal.ru/nauchnye-uchrezhdeniya-shkoly/akademicheskaya-shkola-seminar-im-a-m-ugoleva/pitanie-i-immunitet-rol-pitaniya-v-podderzhanii-funktsionalnoy-aktivnosti-immunnoy-sistemy-i-razvitiya-polnotsennogo-immunnogo-otveta.html>. (in Russian)
26. Strelchenko E. A. Study of the effect of vitamin C on human physiological systems. *Scientific works of KubSTU*. 2019; 1: 319–330. eLIBRARY ID: 36944395. (in Russian)

Поступила 23.03.2021

Принята в печать 16.06.2021

Received on 23.03.2021

Approved for publication on 16.06.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шахов Алексей Гаврилович, доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия.

Сашнина Лариса Юрьевна, доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией иммунологии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия.

Прокулевич Владимир Антонович, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии БГУ, г. Минск, Республика Беларусь.

Владимирова Юлия Юрьевна, младший научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия.

Адодина Мария Ивановна, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии ФГБНУ «ВНИВИПФиТ», г. Воронеж, Россия.

Alexey G. Shakhov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher, Immunology Laboratory, FSBSI "ARVRIPP&T", Voronezh, Russia.

Larisa Yu. Sashnina, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Head of Immunology Laboratory, FSBSI "ARVRIPP&T", Voronezh, Russia.

Vladimir A. Prokulevich, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Head of Department of Microbiology, Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus.

Yulia Yu. Vladimirova, Junior Researcher, Immunology Laboratory, FSBSI "ARVRIPP&T", Voronezh, Russia.

Maria I. Adodina, Senior Researcher, Immunology Laboratory, FSBSI "ARVRIPP&T", Voronezh, Russia.



Изучение биологических свойств штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса везикулярной болезни свиней

Е. Н. Калинина¹, С. Н. Фомина²

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

¹ ORCID 0000-0001-8088-6400, e-mail: haritonova@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-2122-9096, e-mail: fomina@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Везикулярная болезнь свиней – инфекционная вирусная болезнь, сопровождающаяся при остром течении клинической картиной, общей для ряда заболеваний с везикулярным синдромом, включая ящур. При субклиническом течении явные признаки болезни отсутствуют, что затрудняет постановку диагноза и может создавать угрозу заноса инфекционного заболевания на территорию Российской Федерации с инфицированными свиньями. Основной мерой предотвращения заноса везикулярной болезни свиней является проведение контрольных диагностических исследований всех ввозимых на территорию страны животных, что требует постоянного поддержания в актуальном состоянии используемых методов и средств лабораторной диагностики заболевания. В статье представлены данные по экспериментальному заражению естественно восприимчивых животных штаммом «№ 2348 Италия/2008» вируса везикулярной болезни свиней, принадлежащего к наиболее поздней из четырех известных филогенетических групп. Вирус получен из Всемирной справочной лаборатории по ящуру (Пирбрайт, Великобритания) и адаптирован к перевиваемым монослойным культурам клеток свиного происхождения IB-RS-2 и ПСКГ-30. Свиней заражали интрадермально концентрированным культуральным вирусом в дозе 10^6 ТЦД₅₀. У зараженных животных наблюдали клинические признаки, характерные для острого течения болезни. Показано отсутствие передачи вируса интактному животному при соблюдении условий содержания, предотвращающих фекально-оральный и контактный механизмы передачи инфекции. В результате опыта получены референтные образцы сыворотки крови свиней в разные сроки после инфицирования, определена их активность в реакции микронеutralизации вируса в культуре клеток и в иммуноферментном анализе. Отобранный от зараженных животных афтозный материал заложен на хранение в рабочую коллекцию штаммов микроорганизмов референтной лаборатории диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Ключевые слова: везикулярная болезнь свиней, лабораторная диагностика, экспериментальное заражение, иммуноферментный анализ, реакция микронеutralизации вируса в культуре клеток

Благодарность: Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета в рамках проведения научно-исследовательских работ по теме «Разработка метода выявления антител к везикулярной болезни свиней в реакции микронеutralизации» (ГЗ № 081-00010-19-00 от 28.12.2018).

Для цитирования: Калинина Е. Н., Фомина С. Н. Изучение биологических свойств штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса везикулярной болезни свиней. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 203–208. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-203-208.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Калинина Елена Николаевна, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: haritonova@arriah.ru.

Biological properties of swine vesicular disease virus strain 2348 Italy/2008

Ye. N. Kalinina¹, S. N. Fomina²

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

¹ ORCID 0000-0001-8088-6400, e-mail: haritonova@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-2122-9096, e-mail: fomina@arriah.ru

SUMMARY

Swine vesicular disease (SVD) is a viral infectious disease, which, if acute, is manifested by the clinical pattern similar to a number of vesicular diseases including foot-and-mouth disease. In case of subclinical disease, there are no evident clinical signs, therefore the diagnosis is problematic, and there can be the risk of the disease introduction into the Russian Federation with the infected pigs. The key measure for the prevention of SVD introduction involves control diagnostic testing of all animals imported in the country that makes it necessary to keep updated the currently used methods and tools for the disease laboratory diagnosis. The paper demonstrates data on experimental infection of pigs with SVDV strain 2348 Italy/2008 that belongs to the most recent one of the four known phylogenetic

groups. The virus was kindly provided by the World Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease (Pirbright, Great Britain), and it was adapted to the monolayer continuous cell cultures of porcine origin (IB-RS-2 and PGSK-30). The pigs were intradermally infected with concentrated cultured virus at a dose of 10^9 TCID₅₀. The infected animals demonstrated clinical signs typical for the acute disease. There was evidence that the virus was not transmitted to the intact animal in case husbandry conditions were met that allowed to avoid the infection transmission by the fecal-oral and contact mechanisms. As a result of the experiment, reference sera were collected at different time intervals post infection and their activity was determined using virus microneutralization test in cell culture and ELISA. Aphthae collected from the infected animals were deposited into the Strain collection of the Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease, FGBI "ARRIAH".

Keywords: swine vesicular disease, laboratory diagnosis, experimental infection, enzyme-linked immunosorbent assay, virus microneutralization test in cell culture

Acknowledgements: The work was funded by the federal government as a part of the research activities "Development of the method for the detection of swine vesicular disease virus antibodies using microneutralization assay" (SA 081-00010-19-00 of 28.12.2018).

For citation: Kalinina Ye. N., Fomina S. N. Biological properties of swine vesicular disease virus strain 2348 Italy/2008. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 203–208. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-203-208.

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

For correspondence: Yelena N. Kalinina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Reference Laboratory for FMD Diagnosis, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: haritonova@arriah.ru.

ВЕДЕНИЕ

Везикулярная болезнь свиней (ВБС) – контагиозная вирусная болезнь, сопровождающаяся симптомокомплексом, общим для ряда заболеваний с везикулярным синдромом, и в первую очередь с ящуром – одной из экономически значимых и особо опасных болезней животных. Из-за схожести клинических проявлений дифференциальная диагностика болезней с везикулярной симптоматикой невозможна без применения комплекса вирусспецифических средств для лабораторных исследований [1–5].

Несмотря на то что вирус отличается высокой контагиозностью и повышенной устойчивостью к факторам окружающей среды, заболеваемость среди восприимчивых животных значительно варьирует. Ущерб, причиняемый ВБС напрямую, незначителен: при вспышке инфекции у животных наблюдается лишь временное снижение продуктивности при невысоких показателях смертности. Однако косвенный ущерб от мероприятий, направленных на искоренение болезни, значителен [3, 4, 6–8]. Фактором, способствующим распространению инфекции, служит способность ВБС протекать в субклинической форме и длительное время оставаться незамеченной. В последних официально зарегистрированных эпизоотиях бессимптомная форма переболевания стала причиной массового распространения ВБС среди восприимчивых животных, когда болезнь регистрировали исключительно на основании данных серологического мониторинга [9, 10]. По этой причине крупные мировые справочные лаборатории, занимающиеся изучением и диагностикой заболеваний с везикулярным синдромом, разработали, внедрили и продолжают поддерживать в актуальном состоянии современные лабораторные методы диагностики ВБС [5].

Вirus ВБС, как и многие представители семейства *Picornaviridae*, характеризуется достаточной высокой антигенной изменчивостью. Внутри единственного серотипа выделяют четыре отдельные филогенетические группы, последовательно развивавшиеся в различные периоды времени и существенно отличающиеся в анти-

генном отношении [5, 10]. Для Российской Федерации ВБС считается экзотической болезнью и никогда не регистрировалась, но наблюдалась на территории СССР в 1972 г. в Одесской области. Выделенный во время эпизоотии и охарактеризованный штамм «№ 463 Одесса/1972» был отнесен ко II филогенетической группе вируса ВБС, изоляты которой по своим антигенным свойствам значительно отличаются от более поздних изолятов III и IV геногрупп [5, 10–12]. В связи с этим определенный научный и практический интерес с точки зрения использования для диагностики ВБС представляет штамм вируса «№ 2348 Италия/2008», принадлежащий к самой поздней из известных – IV филогенетической группе и, согласно литературным данным, вызывавший в свиноводческих хозяйствах преимущественно бессимптомное, субклиническое течение [7].

Цель работы – воспроизвести клиническую картину ВБС у естественно восприимчивых животных при экспериментальном заражении штаммом «№ 2348 Италия/2008» и изучить динамику образования антител у инфицированных поросят. Эксперимент предоставляет уникальную возможность получить в различные, точно установленные сроки после заражения пробы сыворотки крови подопытных свиней, представляющие определенную ценность в качестве референтных контрольных образцов с возможностью использования в диагностических целях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вirus. В работе использовали вирус ВБС, полученный из Всемирной справочной лаборатории МЭБ по ящур (Пирбрайт, Великобритания), который был адаптирован к монослойным перевиваемым культурам клеток и депонирован в Государственную коллекцию штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ» как штамм «№ 2348 Италия/2008». Определение титра инфекционной активности вируса проводили микрометодом в 96-луночных культуральных планшетах на культуре клеток IB-RS-2. Для экспериментального заражения и гипериммунизации естественно восприимчивых жи-

вотных использовали культуральный вирус VII пассажа, полученный в культуре клеток IB-RS-2, с титром инфекционной активности ($7,73 \pm 0,60$) Ig ТЦД₅₀/50 мкл.

Культура клеток. Для проведения опыта по адаптации штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса ВБС использовали клеточные культуры свиного происхождения, получаемые в секторе культивирования клеток отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ»: СП (первичная культура клеток почки свиньи), ПСГК-30 (перевиваемая линия клеток свиного происхождения) и IB-RS-2 (перевиваемая культура клеток почки свиньи). Для определения чувствительности культур клеток к вирусу ВБС изучаемого штамма проводили серию последовательных «слепых» пассажей в культуральных пластиковых матрасах объемом 25 см³ с внесленной поддерживающей питательной средой до появления видимого цитопатического действия (ЦПД). Зараженную клеточную культуру инкубировали при температуре ($37,0 \pm 0,5$) °С не менее 72 ч. Продолжительность проведения очередного пассажа сокращали по мере уменьшения времени, необходимого для развития 80–100%-го ЦПД.

Животные. Для экспериментального заражения использовали трех подсвинков породы крупная белая и ландрас в возрасте 4 мес. массой 35–40 кг, полученных из хозяйств Владимирской области, благополучных по инфекционным заболеваниям.

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.

Экспериментальное заражение поросят. Животные содержались в изолированном боксе виварного корпуса ФГБУ «ВНИИЗЖ» со свободным доступом к воде и корму в течение 29 сут. Поросят № 1 и 2 заражали интрадермально в область пяточка, венчика обеих передних и одной задней конечностей концентратом вируса в дозе 10^9 ТЦД₅₀. Для получения гипериммунной сыворотки крови животным-реконвалесцентам на 21 день после заражения (ДПЗ) проводили дополнительную иммунизацию: внутримышечно вводили суспензию из смеси 100-кратного концентрированного вирусного антигена с неполным адьювантом Фрейнда в соотношении 1:1. Интактное животное № 3 перевели в бокс к инфицированным пороссятам на 4-й ДПЗ и в дальнейшем содержали совместно. До начала и во время эксперимента у всех животных периодически, с интервалом от 2 до 6 дней, отбирали кровь для серологических исследований.

Реакция микронейтрализации вируса в культуре клеток. Для исследования проб сыворотки крови свиней на наличие вируснейтрализующих антител использовали реакцию микронейтрализации (МН) вируса в культуре клеток на основе штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса ВБС с использованием чувствительной перевиваемой монослойной клеточной культуры IB-RS-2. Исследование проб сыворотки крови свиней проводили методом последовательных разведений на культуральном 96-луночном планшете с внесением предварительно рассчитанной рабочей дозы вирусной суспензии. Планшет оставляли в CO₂-инкубаторе с содержанием

5% углекислого газа при температуре ($37,0 \pm 0,5$) °С на 1 ч для взаимодействия вируснейтрализующих антител испытуемой сыворотки с вирусом. Затем вносили клеточную культуру с концентрацией $(0,8-1,0) \times 10^6$ клеток в см³. Планшет снова помещали в CO₂-инкубатор при температуре ($37,0 \pm 0,5$) °С на 60–72 ч. Учет реакции проводили при помощи инвертированного микроскопа, подсчитывая количество лунок с сохранившимся клеточным монослоем. Расчет титра антител проводили по методу Кербера.

Иммуноферментный анализ. Для определения уровня специфических антител к вирусу ВБС в пробах сыворотки крови животных использовали иммуноферментный анализ, согласно «Методическим рекомендациям по выявлению специфических антител к вирусу везикулярной болезни свиней в конкурентном «сэндвич»-варианте иммуноферментного анализа с использованием моноклональных антител 5В7» (КС-ИФА), и «Набор для определения антител к вирусу ВБС в иммуноферментном анализе» (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия). В качестве референтной диагностической тест-системы использовали коммерческий набор PrioCHECK SVDV Ab Kit (Prionics Lelystad B.V., Нидерланды). Диагностические наборы использовали согласно инструкциям по применению.

Таблица 1
Адаптационные характеристики вируса ВБС штамма «№ 2348 Италия/2008» в культурах клеток свиного происхождения

Table 1
Adaptive capacity of SVDV strain 2348 Italy/2008 in cell cultures of porcine origin

Культура клеток	Номер пассажа	Время проявления 80–100%-го ЦПД, ч	Титр инфекционной активности в РМН на культуре клеток, Ig ТЦД ₅₀ /50 мкл
СП	I	отсутствовало	–
ПСГК-30	I	48	н/и
IB-RS-2	I	48	н/и
СП	II	отсутствовало	–
ПСГК-30	II	48	н/и
IB-RS-2	II	24	н/и
СП	III	отсутствовало	–
ПСГК-30	III	21	н/и
IB-RS-2	III	18	$7,80 \pm 0,60$
ПСГК-30	IV	18	н/и
IB-RS-2	IV	18	$7,80 \pm 0,60$
ПСГК-30	V	18	н/и
IB-RS-2	V	18	$7,73 \pm 0,60$
IB-RS-2	VI	18	$6,98 \pm 0,60$
IB-RS-2	VII	18	$7,73 \pm 0,60$
IB-RS-2	VIII	18	$6,75 \pm 0,60$

н/и – исследование не проводили (not tested).

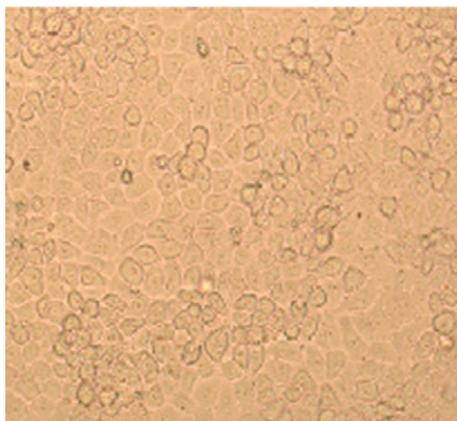


Рис. 1. Контроль культуры клеток IB-RS-2 через 96 ч культивирования (ув. $\times 200$)

Fig. 1. IB-RS-2 cell culture after 96 hours of cultivation (magnification 200 \times)

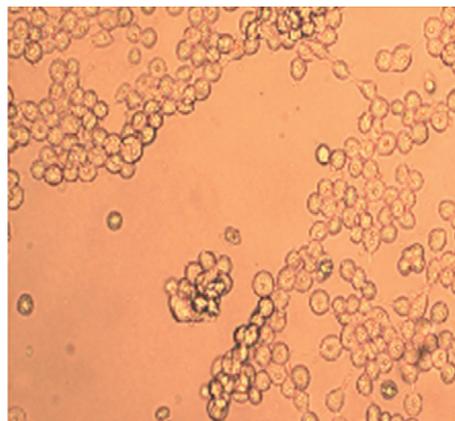


Рис. 2. ЦПД вируса ВБС в культуре клеток IB-RS-2 через 15 ч после инокуляции (ув. $\times 200$)

Fig. 2. CPE of SVDV in IB-RS-2 cell culture in 15 hours post inoculation (magnification 200 \times)

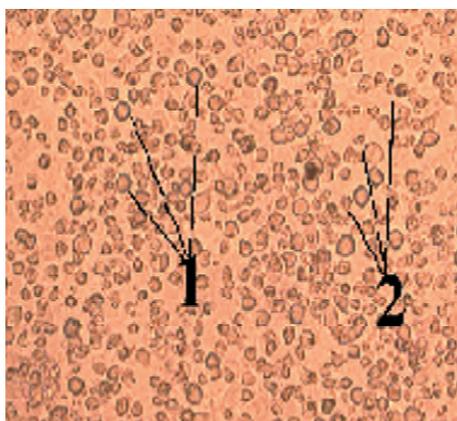


Рис. 3. ЦПД вируса ВБС в культуре клеток IB-RS-2 через 18 ч после инокуляции (ув. $\times 200$):
1 – округлившиеся клетки, 2 – в стадии разрушения

Fig. 3. CPE of SVDV in IB-RS-2 cell culture in 18 hours post inoculation (magnification 200 \times):
1 – rounded cells, 2 – in the process of degradation

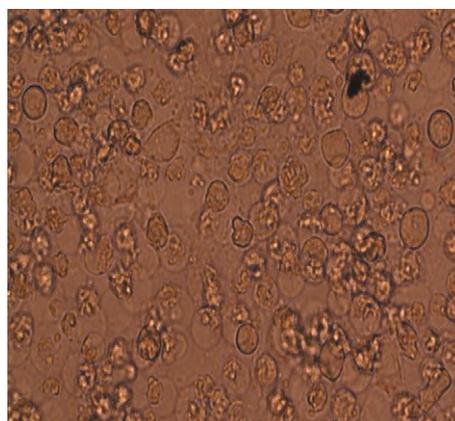


Рис. 4. ЦПД вируса ВБС в культуре клеток IB-RS-2 через 18 ч после инокуляции (ув. $\times 400$)

Fig. 4. CPE of SVDV in IB-RS-2 cell culture in 18 hours post inoculation (magnification 400 \times)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Адаптация вируса ВБС к клеточным культурам.

Адаптацию штамма «№ 2348 Италия/2008» вируса ВБС проводили методом «слепых» пассажей в культуре клеток СП (3 пассажа), ПСГК-30 (5 пассажей) и IB-RS-2 (8 пассажей). Для дальнейшей работы отбирали культуру, к которой вирус быстрее адаптировался и которой требовалось меньшее время для развития 80–100%-го ЦПД. При этом показатели титра инфекционной активности оставались постоянными на протяжении не менее пяти последовательных пассажей. Как видно из представленных в таблице 1 данных, вирус ВБС штамма «№ 2348 Италия/2008» лучше адаптировался к перевиваемым культурам клеток ПСГК-30 и IB-RS-2.

В первичной культуре СП признаки репродукции вируса в течение 3 пассажей отсутствовали. При культивировании в ПСГК-30 и IB-RS-2 на первых пассажах вирус вызывал 100%-е ЦПД через 48 ч. К третьему пассажу время полного разрушения клеточного монослоя для ПСГК-30 сократилось до 21 ч, для IB-RS-2 – до 18 ч. В свя-

зи с высокой чувствительностью к вирусу ВБС для последующей работы была выбрана культура клеток IB-RS-2. Картина дегенеративного изменения клеток, обусловленная репликацией штамма «№ 2348 Италия/2008», была характерной для возбудителя ВБС. Клетки культуры IB-RS-2, изначально имевшие в монослое форму неправильных многоугольников (рис. 1), через 12–15 ч после инокуляции под действием накапливающегося вируса слегка вытягивались, принимая веретенообразную форму (рис. 2), затем округлялись, отрывались от пластика культурального матраса (рис. 3), в итоге сморщивались и разрушались (рис. 4).

Штамм «№ 2348 Италия/2008» вируса ВБС на протяжении шести пассажей в монослойной перевиваемой культуре клеток IB-RS-2 имел относительно постоянный титр инфекционной активности в пределах от $(6,98 \pm 0,60)$ до $(7,80 \pm 0,60)$ Ig ТЦД₅₀/50 мкл. Для заражения свиней использовали полученный в IB-RS-2 100-кратный концентрат культурального вируса VII пассажа с титром инфекционной активности $(7,73 \pm 0,60)$ Ig ТЦД₅₀/50 мкл. Для постановки РМН исполь-

зовали клеточную суспензию, содержащую вирус ВБС штамма «№ 2348 Италия/2008» VI пассажа с титром инфекционной активности ($6,98 \pm 0,60$) Ig ТЦД₅₀/50 кл.

Заражение естественно восприимчивых животных. На время проведения опыта за поросятами установили ежедневное наблюдение, включающее клинический осмотр с термометрией, оценку общего состояния животных, характера передвижения, наличия неврологической симптоматики.

У животных № 1 и 2, зараженных концентрированным культуральным вирусом ВБС штамма «№ 2348 Италия/2008», характерные для острого течения болезни клинические признаки появились через 2 сут. У обоих поросят наблюдали снижение двигательной активности и повышение температуры тела. В местах внутрикожного введения вируса образовались первичные афты: у животного № 1 – на пяточке и венчике обеих передних конечностей, у животного № 2 – на венчике трех конечностей. Генерализация инфекции с образованием вторичных афт наблюдалась на 5-й ДПЗ. Заметное улучшение в состоянии поросят отмечали только после образования вторичных афт и не ранее 7-го ДПЗ. У животного № 2 на 4-й ДПЗ наблюдали диарею, начиная с 5-го ДПЗ появилась хромота, обусловленная воспалительным процессом в области копытца. При этом животное старалось больше лежать, вставало с трудом, опираясь на пястные суставы. На 11-й ДПЗ был отмечен пододерматит, осложнившийся гнойным процессом в результате присоединения вторичной инфекции. У поросенка № 1 наблюдали диарею, начиная с 7-го ДПЗ хромота проявлялась менее выражено, но более длительно, вплоть до 11-го ДПЗ, что связано с развитием пододерматита. На протяжении всего эксперимента ни одно из животных не демонстрировало явных нарушений со стороны нервной системы, не отказывалось от корма. У обоих поросят начиная с 5-го ДПЗ наблюдалась папулезная сыпь на животе и в паху, на более поздних сроках сопровождавшаяся зудом.

У животного № 3 клинических проявлений ВБС, повышения температуры тела и изменений в поведении не наблюдали.

В ходе экспериментального заражения у заболевших животных был отобран биологический материал – эпителий афт и афтозная лимфа. Молекулярно-генетическое исследование биоматериала подтвердило наличие генома вируса ВБС, идентичного геному вируса штамма «№ 2348 Италия/2008». Полученные эпителиальные образцы были заложены на хранение в рабочую коллекцию штаммов микроорганизмов референтной лаборатории диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Серологические исследования. Образцы крови для получения сыворотки отбирали у поросят до начала эксперимента и после заражения на протяжении всего опыта, начиная с 4-х сут. Всего было отобрано 26 проб с различной активностью в серологических реакциях. Результаты исследований на наличие антител против вируса ВБС, полученные разными методами, коррелировали друг с другом (табл. 2).

Полученные результаты свидетельствуют о наличии у заболевших поросят вирусспецифических антител, выявленных во всех тест-системах: у животного № 1 – начиная с 7-го ДПЗ, у животного № 2 – с 4-го ДПЗ. Нарастание титра антител продолжалось до 11-го ДПЗ с последующим плавным снижением [8]. При этом у животного № 2

отмечался более высокий уровень вирусспецифических антител в сравнении с таковым у животного № 1. С целью получения гипериммунной сыворотки к вирусу ВБС переболевших животных дополнительно иммунизировали на 21-й ДПЗ. Дополнительная иммунизация, как и ожидалось, усилила иммунный ответ, при этом титры антител в сыворотках крови обоих поросят достигли

Таблица 2
Активность образцов сыворотки крови свиней, полученных в разные сроки после заболевания и иммунизации штаммом «№ 2348 Италия/2008» вируса ВБС, в различных тест-системах ($n > 3$)

Table 2
Activity of sera collected from pigs at different time intervals post disease and immunization with 2348 Italy/2008 SVDV strain and tested using different test-kits ($n > 3$)

Номер животного	ДПЗ	Результаты ИФА						Результаты РМН	
		Набор ФГБУ «ВНИИЗЖ»		КС-ИФА		Набор PrioCHECK SVDV Ab Kit			
		Ig	результат	Ig	результат	Ig	результат	Ig	результат
1	0	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	4	< 1	отриц.	< 1	отриц.	1,00	полож.	1,81	полож.
	7	2,20	полож.	2,08	полож.	1,90	полож.	2,58	полож.
	11	2,68	полож.	2,08	полож.	2,08	полож.	2,71	полож.
	15	2,51	полож.	2,08	полож.	1,78	полож.	2,58	полож.
	21*	2,34	полож.	1,78	полож.	1,48	полож.	2,41	полож.
	25	2,68	полож.	2,34	полож.	1,90	полож.	3,01	полож.
	29	3,71	полож.	3,28	полож.	2,98	полож.	3,79	полож.
	31	4,19	полож.	3,71	полож.	3,89	полож.	3,79	полож.
2	0	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	4	1,78	полож.	1,30	полож.	1,30	полож.	2,11	полож.
	7	2,68	полож.	2,98	полож.	2,98	полож.	2,71	полож.
	11	2,98	полож.	2,81	полож.	2,98	полож.	2,89	полож.
	15	2,68	полож.	2,68	полож.	2,81	полож.	2,71	полож.
	21*	2,68	полож.	2,08	полож.	2,51	полож.	2,71	полож.
	25	2,98	полож.	2,68	полож.	2,51	полож.	3,49	полож.
	29	4,01	полож.	3,58	полож.	3,11	полож.	3,91	полож.
31	4,19	полож.	3,58	полож.	3,71	полож.	3,91	полож.	
3	0	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	4	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	7	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	11	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	17	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	21	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	24	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.
	27	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.	< 1	отриц.

* дополнительная иммунизация (booster immunization).

ли значительных показателей, как свидетельствовали результаты всех видов исследований.

У поросенка № 3 ни одним из методов исследования антитела в крови обнаружены не были, что позволило сделать вывод о том, что животное не переболело ВБС, хотя и содержалось совместно с заболевшими. Предположительно, отсутствие заражения обусловлено условиями содержания опытных животных, при которых возможность передачи вируса была минимальной: поросят размещали в сухом, ежедневно убиравшемся просторном боксе. Данное обстоятельство исключило контактный способ передачи инфекции. Несмотря на то что для животных, больных ВБС, свойственно продолжительное выделение вируса с экскрементами, а фекально-оральный механизм передачи инфекции остается ведущим, концентрация вирусных частиц в фекалиях, как отмечает ряд авторов [3, 6], относительно невысока. Кормление и поение поросят было организовано таким образом, что комбикорм животными поедался за короткий промежуток времени, а воду подавали в поилки непрерывно, постоянно обновляя. Это исключило контаминацию как корма, так и воды продуктами жизнедеятельности и, как следствие, предотвратило передачу инфекции от заболевших животных контактному как водным, так и алиментарным путем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе проведенной работы, показали, что вызванная вирусом штамма «№ 2348 Италия/2008» везикулярная болезнь свиней протекает с характерными клиническими признаками и сопровождается выраженным иммунным ответом. Появление ранних вирусспецифических антител у зараженных свиней было отмечено на 4-е сут после инфицирования. Длительность логарифмической и стационарной фаз продуктивной стадии антителообразования, при первичном контакте с вирусом ВБС, составила около двух недель: уровень специфических антител достигал максимума с последующим постепенным снижением на 11–15-е сут после заражения. При повторной инокуляции вируса у животных наблюдали более интенсивную динамику прироста вирусспецифических антител, сохранявшуюся до завершения опыта. Ввиду того что ВБС для Российской Федерации является экзотическим заболеванием, полученные в ходе эксперимента сыворотки крови животных-реконвалесцентов представляют определенную ценность, так как могут быть использованы в качестве референтных в лабораторной диагностике болезни.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 1, 3–11 см. REFERENCES)

2. Семкина В. П., Акимова Т. П., Соломатина И. Ю., Караулов А. К. Риск заноса особо опасных заболеваний животных с везикулярным синдромом на территорию России. *Ветеринария сегодня*. 2019; 1 (28): 3–15. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-1-28-3-15.

12. Луговская Н. Н. Антигенное родство штамма О-72 с европейскими и азиатскими штаммами вируса везикулярной болезни свиней. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2012; 10: 113–121. eLIBRARY ID: 18881518.

REFERENCES

1. Swine vesicular disease. In: *OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2019; Chapter 3.8.8: 1608–1617. Available at: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.08.08_SVD.pdf.

2. Semakina V. P., Akimova T. P., Solomatina I. Yu., Karaulov A. K. Risk of introducing highly dangerous animal vesicular diseases into the Russian Federation. *Veterinary Science Today*. 2019; 1 (28): 3–15. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-1-28-3-15.

3. De Clercq K. Swine vesicular disease: incidence, pathogenicity, epidemiology, diagnosis, economic impact. *Conf. OIE*. 2000; 263–270. Available at: <https://www.oie.int/doc/ged/D5674.PDF>.

4. Lin F., Kitching R. P. Swine vesicular disease: an overview. *Vet. J.* 2000; 160 (3): 192–201. DOI: 10.1053/tvjl.2000.0505.

5. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW). Scientific Opinion on Swine Vesicular Disease and Vesicular Stomatitis. *EFSA Journal*. 2012; 10 (4): 2631. DOI: 10.2903/j.efsa.2012.2631.

6. Dekker A. Pathogenesis, diagnosis and epizootiology of swine vesicular disease: PhD Thesis. Lelystad: University of Utrecht; 2000. 122 p. Available at: <https://dspace.library.uu.nl/bitstream/handle/1874/330939/Dekker.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

7. Bellini S., Alborali L., Zanardi G., Bonazza V., Brocchi E. Swine vesicular disease in northern Italy: diffusion through densely populated pig areas. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2010; 29 (3): 639–648. DOI: 10.20506/rst.29.3.2006.

8. Niedbalski W. Diagnostic value of the isotype-specific ELISA for the detection of antibodies against swine vesicular disease virus (SVDV). *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 2002; 46 (1): 37–44.

9. Bellini S., Santucci U., Zanardi G., Brocchi E., Marabelli R. Swine vesicular disease surveillance and eradication activities in Italy. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2007; 26 (3): 585–593. PMID: 18293607. DOI: 10.20506/RST.26.3.1766.

10. Brocchi E., Zhang G., Knowles N. J., Wilsden G., McCauley J.W., Marquardt O., et al. Molecular epidemiology of recent outbreaks of swine vesicular disease: two genetically and antigenically distinct variants in Europe, 1987–94. *Epidemiol. Infect.* 1997; 118 (1): 51–61. DOI: 10.1017/S0950268896007170.

11. Niedbalski W. Phylogenetic analysis of Polish isolates of swine vesicular disease virus (SVDV). *Bull. Vet. Inst. Pulawy*. 1999; 43 (2): 139–145.

12. Lugovskaya N. N. Antigenic relationship of strain O-72 to European and Asian strains of swine vesicular disease virus. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2012; 10: 113–121. eLIBRARY ID: 18881518. (in Russian)

Поступила 20.04.2021

Принята в печать 07.07.2021

Received on 20.04.2021

Approved for publication on 07.07.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Калинина Елена Николаевна, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Фомина Светлана Николаевна, кандидат ветеринарных наук, заведующий референтной лабораторией диагностики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Yelena N. Kalinina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Reference Laboratory for FMD Diagnosis, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Svetlana N. Fomina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for FMD Diagnosis, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.



Сравнительное исследование ПЦР-наборов для выявления ДНК вируса АЧС

М. С. Красникова¹, С. П. Яцентюк², М. Б. Брюсова³, А. Д. Козлова⁴, М. А. Гергель⁵

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

¹ ORCID 0000-0002-6248-419X, e-mail: m.krasnikova@vgnki.ru

² ORCID 0000-0002-4819-2131, e-mail: pcr-lab@vgnki.ru

³ e-mail: m.bryusova@vgnki.ru

⁴ ORCID 0000-0002-4793-2345, e-mail: adkozlova@vgnki.ru

⁵ ORCID 0000-0002-8033-1154, e-mail: m.gergel@vgnki.ru

РЕЗЮМЕ

В работе представлены результаты сравнения 12 отечественных диагностических наборов/ПЦР-тест-систем для выявления ДНК вируса африканской чумы свиней по таким показателям, как полнота и грамотность инструкций по применению; маркировка и комплектация; удобство использования наборов; стабильность работы реагентов в течение срока хранения; стабильность реагентов после транспортировки и многократного замораживания – оттаивания; межсерийная сходимость; чувствительность при тестировании различного материала и специфичность наборов. Изучение инструкций по применению и комплектации наборов выявило неполноту некоторых инструкций. Отмечено, что отдельные производители допускают в инструкциях серьезные ошибки, которые могут существенно повлиять на интерпретацию результатов исследования. Также отмечена недостаточность контроля производственного процесса, результатом которой является выпуск неработоспособных наборов, а также наборов с низким качеством компонентов и ошибками в их маркировке. Так, при проведении исследования один набор показал свою неработоспособность, демонстрируя отсутствие кривых накопления флуоресцентного сигнала как при амплификации положительных контролей, так и ДНК изолятов вируса АЧС. При оценке специфичности все наборы показали отсутствие неспецифических реакций и приемлемую чувствительность при тестировании различных типов материала (крови, суспензий свиной селезенки и черевы свиной, используемой при производстве колбасных изделий), содержащих вирус АЧС. Проверка стабильности показала резкое ухудшение качества работы одного набора в пределах срока годности, для другого набора выявлено существенное снижение уровня флуоресцентного сигнала при многократном замораживании – оттаивании. Сравнение сходимости результатов работы разных серий наборов одного производителя показало существенные расхождения для 41,5% наборов. Установлено, что лишь у 33% рассмотренных наборов для выявления ДНК вируса АЧС отсутствуют какие-либо недостатки. Результаты проведенной работы демонстрируют необходимость контроля выпускаемых диагностических наборов, используемых в государственных программах мониторинга заболеваний животных.

Ключевые слова: ПЦР-тест-система, африканская чума свиней, чувствительность, специфичность, стабильность

Благодарность: Работа выполнена при поддержке Россельхознадзора в рамках научно-исследовательской работы по теме: «Изучение параметров качества отечественных и зарубежных диагностических ПЦР-наборов, применяемых в лабораторной ветеринарной практике на территории РФ, с целью разработки единых требований к параметрам качества и методам их контроля». Авторы выражают благодарность ФГБУ «ВНИИЗЖ» и ФГБНУ ФИЦВиМ за предоставленные образцы вируса АЧС.

Для цитирования: Красникова М. С., Яцентюк С. П., Брюсова М. Б., Козлова А. Д., Гергель М. А. Сравнительное исследование ПЦР-наборов для выявления ДНК вируса АЧС. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 209–215. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-209-215.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Яцентюк Светлана Петровна, кандидат биологических наук, заведующий отделом генодиагностики инфекционных болезней животных отделения биотехнологии ФГБУ «ВГНКИ», 123022, Россия, г. Москва, Звенигородское шоссе, 5, e-mail: pcr-lab@vgnki.ru.

Comparative study of PCR test kits for ASFV DNA detection

M. S. Krasnikova¹, S. P. Yatsentyuk², M. B. Bryusova³, A. D. Kozlova⁴, M. A. Gergel⁵

FSBI "The Russian State Centre for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed" (FSBI "VGNKI"), Moscow, Russia

¹ ORCID 0000-0002-6248-419X, e-mail: m.krasnikova@vgnki.ru

² ORCID 0000-0002-4819-2131, e-mail: pcr-lab@vgnki.ru

³ e-mail: m.bryusova@vgnki.ru

⁴ ORCID 0000-0002-4793-2345, e-mail: adkozlova@vgnki.ru

⁵ ORCID 0000-0002-8033-1154, e-mail: m.gergel@vgnki.ru

SUMMARY

The paper presents comparative test results of 12 domestically produced diagnostic kits/PCR test systems for DNA detection of the African swine fever virus with regard to the following parameters: completeness and correctness of instructions for use; labeling and package contents; convenience of using the kit; shelf life stability of reagents; stability of reagents after transportation and repeated freezing – thawing; batch-to-batch repeatability; sensitivity of various test materials and specificity of kits. The study of the instructions for use and kit contents revealed incompleteness of some instructions. It was noted that some manufacturers make serious errors in the instructions, which can significantly affect the interpretation of test results. It was also observed that there is insufficient control of the manufacturing process, which results in the production of faulty kits, as well as kits with poor-quality components and errors in the labeling. Thus, during the study, one kit showed its inactivity, demonstrating the absence of accumulation curves of the fluorescent signal during amplification of both positive controls and DNA of ASFV isolates. When the specificity was assessed, all the kits showed absence of non-specific reactions and acceptable sensitivity when testing various types of ASFV-containing material (blood, suspensions of pork spleen and pork casings used in sausage production). The stability test showed a sharp deterioration in the quality of operation of one kit within the shelf life period, and a significant decrease in the fluorescence signal was detected during repeated freeze – thaw cycles for another kit. Comparison of the repeatability results of different kit batches of the same manufacturer showed significant discrepancies for 41.5% of all kits. It was found that only 33% of the studied kits for ASFV DNA detection were compliant. The results of this study demonstrate the need for control of the manufactured diagnostic kits used in state programs for animal disease monitoring.

Keywords: PCR test system, African swine fever, sensitivity, specificity, stability

Acknowledgements: The study was carried out with the support of the Rosselkhoznadzor within the research work: “Study of quality parameters of domestic and foreign diagnostic PCR test kits used in laboratory veterinary practice in the Russian Federation in order to develop common requirements for quality parameters and methods of their control”. The authors express their gratitude to the FGBI “ARRIAH” and the FSBI FRCVM for providing the ASF virus samples.

For citation: Krasnikova M. S., Yatsentyuk S. P., Bryusova M. B., Kozlova A. D., Gergel M. A. Comparative study of PCR test kits for ASFV DNA detection. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 209–215. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-209-215.

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

For correspondence: Svetlana P. Yatsentyuk, Candidate of Science (Biology), Head of the Department of Genodiagnosics of Infectious Animal Diseases, Department of Biotechnology, FSBI “VGNKI”, 123022, Russia, Moscow, Zvenigorodskoye shosse, 5, e-mail: pcr-lab@vgnki.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) – это высококонтагиозное вирусное заболевание свиней, вызываемое вирусом семейства *Asfarviridae*, которое поражает как домашних, так и диких свиней всех возрастов. АЧС является причиной серьезных экономических и производственных потерь и входит в список заболеваний Кодекса здоровья наземных животных, о случаях вспышек которых необходимо сообщать во Всемирную организацию здравоохранения животных (МЭБ).

Учитывая отсутствие эффективного лечения, а также программ вакцинации, профилактика АЧС во многом зависит от своевременной локализации и ликвидации вспышек заболевания. В Российской Федерации ежегодно проводят диагностические исследования как среди диких, так и среди домашних свиней. Количество проведенных исследований, по данным отчетов (форма 1-вет А), обобщенных в ФГБУ «Центр ветеринарии», в 2019 г. превысило 670 тыс., за 9 месяцев 2020 г. – 473 тыс. исследований. В 2020 г., по данным информационно-аналитического центра управления ветеринарным надзором Россельхознадзора [1], на территории России зафиксированы и нотифицированы в МЭБ 161 вспышка АЧС в популяции домашних свиней и 110 вспышек заболевания в популяции диких кабанов.

В настоящее время для диагностики АЧС широко применяется метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Ветеринарные лаборатории, как правило, проводят исследования с использованием наборов реагентов (тест-систем), выпускаемых отечественными производителями. Лаборатории, выполняющие диа-

гностические исследования в рамках государственных программ, должны быть аккредитованы Федеральной службой по аккредитации (Росаккредитация), а документы, устанавливающие правила и методы испытаний, должны быть указаны в области аккредитации испытательной лаборатории. Часто такими документами являются инструкции к тест-системе или набору реагентов, при этом лаборатории обязаны четко следовать этим инструкциям. Проблема заключается в том, что в настоящее время диагностические тест-системы не проходят обязательную государственную регистрацию и сертификацию, отсутствует перечень требований к ним, согласование текста инструкций и независимая проверка качества наборов, что может привести к выпуску на рынок недостаточно качественных продуктов, проведение исследований с использованием которых может привести к неэффективной диагностике.

На отечественном рынке ПЦР-диагностикомов присутствуют тест-системы/наборы для ПЦР-диагностики АЧС в нескольких форматах и комплектациях: с электрофоретической детекцией и с гибридационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени; в полной комплектации, включающей как набор реагентов для проведения ПЦР, так и набор для экстракции ДНК, и, в случае электрофоретической детекции, набор для проведения электрофореза, а также наборы, предназначенные только для проведения ПЦР. В последнем случае производитель в инструкции может давать рекомендации о том, какой набор для выделения нуклеиновых кислот может

использоваться вместе с ПЦР-набором или указывает метод экстракции, либо указывает, что можно использовать любой набор для выделения нуклеиновых кислот. Обязательными компонентами набора являются контрольные образцы ПЦР. Однако и здесь отсутствует единообразие: в состав одних наборов входят эндогенный и/или экзогенный внутренний контрольный образец (ВКО), позволяющий контролировать взятие материала или качество экстракции, другие наборы не содержат ВКО, что снижает достоверность диагностического исследования. Сравнительные исследования диагностических наборов для выявления ДНК вируса АЧС, представленных на рынке диагностикумов России, ранее не проводились.

Целью данного исследования являлось сравнение отечественных диагностических ПЦР-наборов для выявления ДНК вируса АЧС, для чего были изучены такие показатели, как: полнота и грамотность инструкций по применению; маркировка и комплектация; удобство использования наборов; стабильность работы реагентов в течение заявленного производителем срока хранения; стабильность работы реагентов после транспортировки и многократного замораживания – оттаивания; сходимость результатов, получаемых при использовании разных серий набора одного производителя; предел обнаружения (чувствительность) при тестировании различного материала и специфичность наборов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали наборы реагентов для выявления ДНК вируса АЧС методом ПЦР отечественного производства (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, ООО НПФ «Литех», ООО «Синтол», ООО «Фрактал Био», ООО «ИДС», ООО «Вет Фактор», ООО «ВМТ», ООО «Ветбиохим», ООО «Технология Центр», ООО «Органик-Тест»). При обсуждении результатов работы названия тест-систем/наборов и их производителей закодировали.

В качестве референтной диагностической тест-системы использовали набор VetMAX ASFV Detection Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., США), валидированный и сертифицированный МЭБ (регистрационный номер 20200114).

Специфичность наборов оценивали с использованием панели из 38 различных образцов, включая штаммы бактерий и вирусов: «Скиф» вируса болезни Ауески, «Ильиногорский» штамм вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней, «ИС» вируса эпидемической диареи свиней, «КС» и «ЛК-ВНИИВВиМ» классической чумы свиней, «ВЛ90-94» парвовируса свиней, «G10 P11» ротавируса, 94881 вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней, 1010 цирковируса свиней, *Bordetella bronchiseptica* ATCC 4617, *Brachyspira pilosicoli* ATCC 51139, *Brucella abortus* 82 сер. 022, *Brucella suis* 1330, *Campylobacter jejuni* «70.2T», *Chlamydia psittaci* «ЛС-87», *Clostridium perfringens* «Амо», *Escherichia coli* 0157:H7, *Erysipelothrix rhusiopathiae* ATCC 8139, *Haemophilus parasuis* «Уральский», *Histophilus somni* ATCC 700025, *Klebsiella pneumoniae* «K2 5055», *Lawsonia intracellularis* «MS B3903», *Leptospira interrogans* Pomona «ВГНКИ-6», *Listeria monocytogenes* «УСХИ-6», *Mycobacterium avium* «D4», *Mycobacterium bovis* 1414, *Mycobacterium paratuberculosis* 19698, *Mycoplasma hyopneumoniae* «J», полевой изолят *Mycoplasma hyorhinis*, *Pasteurella multocida* ATCC 43137, *Pseudomonas aerugi-*

nosa ATCC 27853, *Salmonella enterica* «Dublin 6», *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Staphylococcus aureus* «ВКПМВ 6646», *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615, *Yersinia enterocolitica* «My O3 ВНИПЧИ «Микроб», *Yersinia pseudotuberculosis* 192, а также геномную ДНК свиньи и панель из 6 образцов суспензии, содержащей вирус АЧС, полученных из коллекции ФГБУ «ВНИИЗЖ» (изоляты: Калининград 10/17, Орел 07/18, Арм07, Краснодар 07/17, Ленинград 02/19) и ФГБНУ ФИЦВиМ (штамм «Ставрополь 01/08»).

Для тест-систем в полной комплектации, включающих как набор реагентов для проведения ПЦР, так и набор для экстракции ДНК, чувствительность (предел обнаружения) в разных матрицах – биологическом материале (кровь, селезенка) и свиной череве, используемой для производства колбас, – оценивали для всего комплекта в целом. При работе с тест-системами, предназначенными только для проведения ПЦР и в инструкциях к которым отсутствуют рекомендации по экстракции ДНК, использовали комплект реагентов для выделения «ДНК/РНК-С-Фактор» (ООО «Вет Фактор», Россия). Были подготовлены серии десятикратных разведений изолята Ленинград 02/19 вируса АЧС (исходный титр 6,2 Ig ГАД_{Е50}/см³) в 10%-х суспензиях свиной селезенки, черевы и в крови. Выделение ДНК, а затем ПЦР проводили в трех повторностях для каждого разведения каждого типа материала.

Сравнение чувствительности комплектов для амплификации (без учета стадии экстракции ДНК) проводили с использованием серии разведений изолята Калининград 10/17 вируса АЧС (исходный титр 5,8 Ig ГАД_{Е50}/см³) в физиологическом растворе. Для выделения ДНК использовали набор «Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора). Полученную ДНК использовали для амплификации в ПЦР с помощью наборов различных производителей. Для каждого разведения вируса ПЦР проводили в трех повторностях.

Для сравнения эффективности экстракции ДНК наборами для выделения разных производителей, нуклеиновую кислоту выделяли из десятикратных разведений изолята Ленинград 02/19 вируса АЧС в физиологическом растворе. ПЦР проводили с помощью референтного набора реагентов VetMAX ASFV Detection Kit (Thermo Fisher Scientific Inc., США).

Амплификацию ДНК, в зависимости от указанного производителем наборов способа детекции продуктов ПЦР, проводили с использованием приборов CFX96 C1000 Touch (Bio-Rad Laboratories Inc., США), Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH, Германия) и «Терцик» (ООО «ДНК-Технология», Россия).

При проверке стабильности работы наборов реагентов оценивали результат амплификации положительных и отрицательных контролей каждые 3 месяца в течение срока годности. Для оценки устойчивости реагентов к температурным условиям транспортировки, рекомендованным производителями, а также к многократному замораживанию – оттаиванию каждый из них делили на три равные части. Одну часть выдерживали при температурах, указанных производителем для хранения. Другую подвергали многократному (до 15 раз) замораживанию – оттаиванию. Вторую выдерживали в термоизолирующей пенопластовой коробке во льду в течение максимального срока транспортировки, допускаемого производителем. По завершении испытаний для каждого диагностического набора

проводили сравнительные реакции амплификации положительных и отрицательных контролей в нескольких повторностях.

Для проверки межсерийной воспроизводимости результатов сравнивали работоспособность одинаковых наборов реагентов разных серий, при этом учитывали данные, полученные после проведения сравнительных реакций амплификации положительных контролей и их разведений, а также образцов, содержащих ДНК вируса АЧС.

Прецизионность в условиях сходимости (повторяемости) и воспроизводимости определяли как степень согласованности результатов множественных анализов одного образца [2, 3]. Проводили расчет среднего арифметического значения порогового цикла C_t , среднеквадратического отклонения и коэффициента вариации. Совокупность полученных данных считали: однородной – если коэффициент вариации не превышал 10%; достаточно однородной – если коэффициент вариации находился в пределах 10–20%; достаточно разнородной – если коэффициент вариации был в диапазоне от 20 до 33%; разнородной – если коэффициент вариации превышал 33% [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В исследование были включены 12 наборов десяти производителей. Из них 10 наборов относились к формату ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени и 2 набора – к ПЦР с электрофоретической детекцией.

Оценка инструкций по применению наборов реагентов (тест-систем) показала, что некоторые произво-

дители уделяют недостаточно внимания их подготовке, а также маркировке компонентов. В инструкциях допускаются серьезные ошибки, в том числе противоречащие нормативным документам, регламентирующим работу лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот [5]. Такие ошибки могут существенно повлиять на интерпретацию результатов исследования, привести к выдаче ложноположительных или ложноотрицательных результатов. Не во всех инструкциях присутствует информация о подготовке проб к выделению ДНК. Для набора № 12 производитель заменил инструкцию по применению памяткой, в которой содержится информация о проведении этапа амплификации ДНК и по интерпретации результатов, но отсутствует описание компонентов набора, а также условий хранения реагентов и их транспортировки.

Анализ комплектации и эргономичности наборов показал, что отдельные производители неверно рассчитывают объем контрольных образцов, не учитывая возможность исследования в лаборатории единичных проб биологического материала.

В экспериментах по изучению специфичности все тест-системы, за исключением № 12, корректно детектировали ДНК вируса АЧС во всех исследуемых образцах изолятов вируса АЧС, выделенных в разное время на территории России.

Набор для амплификации № 12 показал свою работоспособность при тестировании девяти комплектов реагентов этого производителя разными операторами на разных приборах в разное время. Было выявлено отсутствие флуоресцентного сигнала по каналам детекции вируса АЧС как при амплификации ДНК, выде-

Таблица 1
Сравнительные результаты определения чувствительности наборов для амплификации при тестировании различного материала, загрязненного вирусом АЧС

Table 1
Comparative results of sensitivity assessment of amplification kits when testing various ASFV-contaminated materials

Обозначение-закодированной тест-системы/набора	Чувствительность наборов для амплификации ДНК вируса АЧС			
	без учета стадии выделения ДНК	при выделении ДНК из разных типов материала		
		Выявляемый титр вируса АЧС изолята Калининград 10/17 в физиологическом растворе (исходный титр 5,8 lg ГАД _{E₅₀} /см ³)	Выявляемый титр вируса АЧС изолята Ленинград 02/19 (исходный титр 6,2 lg ГАД _{E₅₀} /см ³)	
	в крови свиней		в суспензии свиной селезенки	в суспензии черевы свиней
№ 1	0,8	3,2	4,2	3,2
№ 2	0,8	3,2	3,2	3,2
№ 3	0,8	2,2	2,2	2,2
№ 4	0,8	2,2	2,2	1,2
№ 5	1,8	4,2	3,2	2,2
№ 6	1,8	3,2	4,2	3,2
№ 7	1,8	3,2	3,2	2,2
№ 8	1,8	3,2	3,2	4,2
№ 9	1,8	4,2	4,2	4,2
№ 10	1,8	3,2	3,2	2,2
№ 11	2,8	3,2	3,2	4,2

Таблица 2

Сравнительные результаты испытаний разных серий наборов с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени

Table 2

Comparative test results of different batches of kits with real time hybridization-fluorescence detection

Обозначение закодированной тест-системы/набора	Амплификация положительного контрольного образца на каналах детекции	Серия 1, Ct	Серия 2, Ct	Среднеквадратическое отклонение	Коэффициент вариации, %
№ 1	АЧС	17,36	18,03	0,34	1,89
	ВКО	19,28	19,50	0,11	0,57
№ 2	АЧС	26,89	28,87	0,99	3,55
	ВКО	29,35	22,55	3,40	13,40
№ 3	АЧС	19,22	17,35	0,93	5,11
	ВКО	20,23	19,51	0,36	1,81
№ 4	АЧС	32,68	34,14	0,73	2,18
	ВКО	31,35	32,14	0,40	1,24
№ 5	АЧС	23,15	23,24	0,04	0,19
	ВКО	20,44	20,37	0,04	0,17
	Экзогенный ВКО	21,76	21,83	0,03	0,16
№ 7	АЧС	23,68	16,61	3,54	17,55
№ 9	АЧС	16,87	20,32	1,73	9,28
№ 10	АЧС	19,69	19,87	0,09	0,46
	ВКО	24,17	26,34	1,09	4,30
№ 11	АЧС	Отсутствие детекции	10,15	–	–

ленной из изолятов вируса, так и при амплификации положительных контролей, входящих в состав набора. Поэтому наборы для проведения ПЦР этого производителя в остальных проверках не участвовали.

Результаты проверки чувствительности наборов для амплификации без учета стадии выделения ДНК, а также чувствительности систем праймеров при тестировании ДНК, выделенной из различных типов материала (кровь, суспензии свиной селезенки и черевы свиной), обобщены в таблице 1.

У ряда наборов наблюдали снижение предела обнаружения вируса при исследовании разных типов материала от свиной. Данный факт приобретает важное значение в случае исследования на АЧС пищевых продуктов свиного происхождения (колбас, фарша), в которых концентрация вируса может быть невысокой. При этом часть исследованных наборов (№ 2, 3, 9) показала одинаковую чувствительность вне зависимости от тестируемого материала. В целом можно отметить, что все наборы для амплификации продемонстрировали приемлемую чувствительность, поэтому при выборе между ними необходимо руководствоваться количеством и типом исследуемых проб, а также оценивать в связи с этим риск возникновения контаминации.

Поскольку этап выделения нуклеиновых кислот играет важную роль в ПЦР-исследовании, отдельно изучали эффективность экстракции ДНК наборами разных производителей. Эффективность экстракции оценивали, сравнивая результаты ПЦР,

полученные с помощью референтного набора VetMAX ASFV Detection Kit.

Установлено, что эффективность выделения ДНК при использовании наборов № 7–9 была ниже, чем у остальных. Выделенный с помощью этих наборов вирус АЧС был детектирован VetMAX ASFV Detection Kit с титром $4,2 \text{ Ig ГАД}_{50}/\text{см}^3$ в отличие от наборов № 1–6 и 10, которые позволили детектировать тем же набором сравнения вирус с титром $2,2 \text{ Ig ГАД}_{50}/\text{см}^3$. Несмотря на некорректную работу набора для ПЦР № 12, исследование показало достаточно высокую эффективность выделения ДНК разных комплектов для экстракции этого производителя: все комплекты реагентов, основанные на разных методах выделения ДНК, демонстрируют одинаковую эффективность (выявляемый титр вируса $3,2 \text{ Ig ГАД}_{50}/\text{см}^3$).

Надо отметить, что все исследованные наборы для выделения ДНК соответствуют своему целевому назначению и позволяют достаточно эффективно проводить экстракцию ДНК при тестировании материала от животных.

Результаты изучения стабильности наборов реагентов в течение срока годности показали резкое ухудшение качества работы набора № 8 в последней временной точке (12-й месяц хранения). Остальные наборы демонстрировали высокую или достаточную однородность результатов ПЦР на протяжении всего срока, с коэффициентом вариации до 10% или в пределах 10–20%.

Оценка устойчивости компонентов наборов к многократному замораживанию – оттаиванию и хранению при условиях транспортировки показала высокую стабильность десяти наборов из одиннадцати. Для набора № 7 при многократном замораживании – оттаивании выявлено двукратное снижение флуоресцентного сигнала при детекции результатов амплификации относительно значений, полученных при использовании аликвот исходных реагентов.

При проведении сравнительных испытаний разных серий наборов одного производителя выявлены расхождения в работе серий пяти из одиннадцати исследуемых наборов. Набор № 6 с электрофоретической детекцией продуктов амплификации показал высокую однородность результатов для двух разных серий, тогда как для разных серий аналогичного по методу детекции набора № 8 выявлены различия в работе входящего в комплект положительного контроля выделения: в одной серии результат амплификации детектируется только при десятикратном разведении этого компонента, а в другой детекция наблюдается при использовании компонента без предварительного разведения. Это может указывать на недоработки при производстве контрольного образца и наличие большого количества ингибиторов ПЦР в реагенте из первой серии.

В таблице 2 представлены результаты сравнения положительных контролей наборов реагентов для выявления ДНК вируса АЧС методом ПЦР с гибридно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

В разных сериях набора № 7 различия в значении *St* при амплификации положительного контроля составили 7 (коэффициент вариации превышает 10%), при том что результаты амплификации ДНК вируса АЧС практически идентичны. Также в одной серии выявлена неработоспособность системы амплификации внутреннего контроля, что в целом говорит о нестабильном качестве контрольных образцов, системы праймеров и зондов данного производителя.

При сравнении разных серий набора № 2 установлено различие уровня флуоресцентного сигнала при детекции продуктов амплификации положительных образцов в 4 раза (коэффициент вариации превышает 10%).

В разных сериях набора № 10 выявлены различия в результатах амплификации внутреннего контроля ПЦР: различия в значении *St* по каналу детекции внутреннего контроля из наборов разных серий составили более 14 (коэффициент вариации превышает 25%), что также свидетельствует о нестабильном качестве производства этого компонента набора.

Набор № 11 разных серий показал низкую сходимость результатов: одна серия показала хорошую работоспособность, а наборы другой серии (проверку трех наборов этой серии проводили разные операторы) не продемонстрировали экспоненциальный рост кривых накопления флуоресцентного сигнала ни для положительных контролей, входящих в состав тест-системы, ни для контрольных образцов, содержащих вирус АЧС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что только у четырех из двенадцати рассмотренных наборов реагентов для выявления ДНК вируса АЧС трех различ-

ных производителей ПЦР-тест-систем ветеринарного назначения отсутствуют какие-либо недостатки, препятствующие их максимально результативному использованию.

Было отмечено, что отдельные производители ПЦР-тест-систем не уделяют должного внимания подготовке инструкций и комплектации наборов. Недостаточный контроль производственного процесса приводит к несоответствию маркировки, низкому качеству компонентов и в итоге – к неработоспособности контрольных образцов, реагентов или тест-системы в целом. Исследование показало, что чувствительность одного и тех же наборов при тестировании различного материала, указанного в инструкции по применению, может отличаться на 2 порядка. Наборы всех производителей продемонстрировали отсутствие неспецифических реакций, а проверка стабильности и межсерийной схожимости результатов показала, что замечаний по этим параметрам нет только для пяти диагностических наборов из двенадцати.

В настоящий момент сравнение тест-систем для диагностики проводится только внутри лабораторий либо провайдером при анализе результатов раундов профессионального тестирования. Результаты проведенной работы демонстрируют важность как государственной регистрации, так и периодического контроля выпускаемых диагностических наборов, используемых в государственных программах мониторинга заболеваний животных. Подобные процедуры регулирования рынка диагностических наборов существуют в странах ЕС, США и Канаде. Анализ данных процедур показал, что при оценке диагностикомов для ветеринарного применения в первую очередь рассматривают соответствие целевому назначению диагностического средства, его специфичность, чувствительность и воспроизводимость результатов, получаемых с использованием набора реагентов. В Российской Федерации сравнимой является процедура регистрации медицинских изделий, направленная на выпуск на российский рынок качественной и безопасной продукции. Разработка аналогичной процедуры государственного контроля диагностических наборов ветеринарного назначения представляется актуальной задачей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. 4 см. REFERENCES)

1. Эпизоотическая ситуация по АЧС в Российской Федерации в 2020 г. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/2020/12-31/01.pdf> (дата обращения: 02.01.2021).
2. Поляков И. В., Соколова Н. С. Практическое пособие по медицинской статистике. Л.: Медицина; 1975; 26–30.
3. Полякова В. В., Шаброва Н. В. Основы теории статистики: учебное пособие. 2-е изд., испр. и доп. Екатеринбург: Издательство Уральского университета; 2015. 145 с.
5. МУ 1.3-2569-09 Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2010. 51 с. Режим доступа: https://www.rosпотребнадзор.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4801.

REFERENCES

1. ASF epidemic situation in the Russian Federation in 2020. [Эпизоотическая ситуация по АЧС в Российской Федерации в 2020 г.]. Available at: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/2020/12-31/01.pdf> (date of access 02.01.2021). (in Russian)
2. Polyakov I. V., Sokolova N. S. Practical guide to medical statistics [Практическое пособие по медицинской статистике]. L.: Meditsyna; 1975; 26–30. (in Russian)

3. Polyakova V. V., Shabrova N. V. Fundamentals of the theory of statistics [Osnovy teorii statistiki]: Study Guide. 2nd ed., revised and updated. Yekaterinburg: Ural University Publishing House; 2015. 145 p. (in Russian)

4. Sundar Rao P.S.S., Richard J. Introduction to biostatistics and research methods. 5th ed. New Delhi: PHI Learning Private Limited; 2012. 280 p.

5. Methodical Guidelines 1.3-2569-09 Organization of laboratory activities using methods for amplification of nucleic acids and handling materials containing microorganisms of I–IV pathogenicity groups [МУ 1.3-2569-09 Organizaciya raboty laboratorij, ispol'zuyushchih metody amplifikacii

nukleinovyh kislot pri rabote s materialom, soderzhashchim mikroorganizmy I–IV grupp patogennosti]: Methodical Guidelines. M.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor; 2010. 51 p. Available at: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4801. (in Russian)

Поступила 09.03.2021

Принята в печать 26.05.2021

Received on 09.03.2021

Approved for publication on 26.05.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Красникова Мария Сергеевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела генодиагностики инфекционных болезней животных отделения биотехнологии ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия.

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

Брюсова Мария Борисовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом исследований биологических объектов ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия.

Козлова Александра Дмитриевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела генодиагностики инфекционных болезней животных отделения биотехнологии ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия.

Гергель Мария Александровна, заместитель директора, руководитель испытательного центра ФГБУ «ВГНКИ», г. Москва, Россия.

Maria S. Krasnikova, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Department for Genodiagnosics of Infectious Animal Diseases of VGNKI, Department of Biotechnology, FSBI "VGNKI", Moscow, Russia.

Svetlana P. Yatsentyuk, Candidate of Science (Biology), Head of the Department for Genodiagnosics of Infectious Animal Diseases of VGNKI, Department of Biotechnology, FSBI "VGNKI", Moscow, Russia.

Maria B. Bryusova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Head of the Department for Biological Object Studies, FSBI "VGNKI", Moscow, Russia.

Aleksandra D. Kozlova, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Department for Genodiagnosics of Infectious Animal Diseases of VGNKI Department of Biotechnology, FSBI "VGNKI", Moscow, Russia.

Mariya A. Gergel, Deputy Director and Head of Testing Center, FGBU "VGNKI", Moscow, Russia.

DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-216-223
 УДК 619:616.98:578.842.1:611.018.54:616-078



Влияние условий хранения сывороток крови свиней на выявление антител к вирусу АЧС методом ИФА

А. Р. Шотин¹, И. Ю. Жуков², А. С. Першин³, Али Мазлум⁴, И. В. Шевченко⁵, А. С. Иголкин⁶, О. А. Мануйлова⁷, К. Н. Груздев⁸

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

¹ ORCID 0000-0001-9884-1841, e-mail: shotin@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-3817-2129, e-mail: zhukov@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-5099-3050, e-mail: daredron@gmail.com

⁴ ORCID 0000-0002-5982-8393, e-mail: mazlum@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0001-6482-7814, e-mail: shevchenko@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0002-5438-8026, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

⁷ ORCID 0000-0002-4616-5316, e-mail: o.manuylova@list.ru

⁸ ORCID 0000-0003-3159-1969, e-mail: gruzdev@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Одной из мер борьбы с распространением и профилактики африканской чумы свиней в Российской Федерации является проведение исследований проб, отбираемых от свиней и кабанов, в том числе серологическими методами с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) для качественного определения содержания антител к вирусу. При этом в настоящее время на территории страны не существует нормативного документа, регламентирующего условия хранения проб сыворотки крови для постановки ИФА при определении содержания антител к вирусу АЧС. Также отсутствуют литературные данные о максимально допустимом сроке хранения проб сыворотки крови свиней, а влияние условий хранения на серологический статус сывороток крови домашних свиней в отношении АЧС изучено недостаточно. В статье представлены результаты эксперимента по определению влияния температурных режимов и длительности хранения серопозитивных и серонегативных в отношении вируса АЧС сывороток крови домашних свиней на их серологический статус при постановке тест-системой INgezim PPA Compas (Ingenasa, Испания) для твердофазного ИФА и вероятности получения ложных результатов. В ходе выполнения работы и анализа результатов получены новые данные, свидетельствующие об отсутствии или незначительном влиянии моделируемых режимов хранения на определение серологического статуса качественных проб сывороток крови в отношении вируса АЧС, в то время как гемолизированные пробы показали более заметное изменение, пропорциональное степени гемолиза и длительности хранения. Несмотря на то что полученные результаты по обнаружению антител к возбудителям одних болезней не применимы для других патогенов, данное исследование имеет существенное прикладное значение, позволяя установить зависимость получения достоверных результатов при серодиагностике АЧС от условий хранения проб.

Ключевые слова: африканская чума свиней, иммуноферментный анализ, сыворотка крови, условия хранения

Благодарность: Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета в рамках проведения научно-исследовательских работ по теме: «Проведение прикладных научных исследований» (ГЗ № 081-00010-19-00 от 28.12.2018).

Для цитирования: Шотин А. Р., Жуков И. Ю., Першин А. С., Мазлум Али, Шевченко И. В., Иголкин А. С., Мануйлова О. А., Груздев К. Н. Влияние условий хранения сывороток крови свиней на выявление антител к вирусу АЧС методом ИФА. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 216–223. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-216-223.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Шотин Андрей Романович, аспирант, ведущий биолог референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: shotin@arriah.ru.

Effect of pig serum storage conditions on detection of anti-ASFV antibodies by ELISA

A. R. Shotin¹, I. Yu. Zhukov², A. S. Pershin³, Ali Mazloun⁴, I. V. Shevchenko⁵, A. S. Igolkin⁶, O. A. Manuylova⁷, K. N. Gruzdev⁸

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

¹ ORCID 0000-0001-9884-1841, e-mail: shotin@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-3817-2129, e-mail: zhukov@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-5099-3050, e-mail: daredron@gmail.com

⁴ ORCID 0000-0002-5982-8393, e-mail: mazlum@arriah.ru

⁵ ORCID 0000-0001-6482-7814, e-mail: shevchenko@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0002-5438-8026, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

⁷ ORCID 0000-0002-4616-5316, e-mail: O.manuylova@list.ru

⁸ ORCID 0000-0003-3159-1969, e-mail: gruzdev@arriah.ru

SUMMARY

One of the measures used to control and prevent African swine fever spread in the Russian Federation involves testing pig and boar sera using *inter alia* serological tools based on enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for anti-viral antibody detection. However, there is no unified regulatory document specifying storage conditions for sera used in the ELISA for anti-ASFV antibody detection. There are also lack of published data on the maximum admissible shelf life of the pig sera, and the effect of storage conditions on the serological status of the pig sera as for ASF is understudied. The paper demonstrates results of the experiment aimed at the determination of the effect of storage temperatures and shelf life on the serological status of ASFV seropositive and seronegative pig sera when tested by INgezim PPA Compac (Ingenasa, Spain) ELISA as well as on the possibility of false results. During the experiment and analysis of its results, the new data were obtained, and they indicated from none to non-significant effect of the simulated storage conditions on the serological status of sera used for ASFV detection, while hemolyzed sera demonstrated more significant changes proportional to hemolysis degree and storage duration. Although the results of detection of antibodies against the agents of some diseases cannot be used in case of other pathogens, this study has a substantial applied significance as it allows to specify the dependence of the valid results of ASF serodiagnosis on the storage conditions of the samples.

Keywords: African swine fever, enzyme-linked immunosorbent assay, serum, storage conditions

Acknowledgements: The experiment was funded by the federal government as a part of the research activities "Applied Research" (SA No. 081-00010-19-00 от 28.12.2018).

For citation: Shotin A. R., Zhukov I. Yu., Pershin A. S., Mazloum Ali, Shevchenko I. V., Igolkin A. S., Manuylova O. A., Gruzdev K. N. Effect of pig serum storage conditions on detection of anti-ASFV antibodies by ELISA. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 216–223. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-216-223.

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

For correspondence: Andrey R. Shotin, Post-Graduate Student, Leading Biologist, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: shotin@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) является контагиозным вирусным заболеванием домашних свиней и кабанов, проявляющимся у восприимчивых животных в виде геморрагической лихорадки с летальностью до 100% [1]. Резервуарами вируса являются бородавочники, кустарниковые и дикие свиньи, клещи рода *Ornithodoros*. Болезнь катастрофически воздействует на свиноводство в целом, включая предприятия всех форм собственности (от личного подсобного хозяйства до промышленной свинофермы), приводя к тяжелым социально-экономическим последствиям и угрожая продовольственной безопасности неблагополучной территории [2, 3].

Африканскую чуму свиней впервые описал Р. Монтомери в 1921 г. в Кении. Впоследствии о вспышках АЧС сообщалось из большинства стран Южной и Восточной Африки. В 1957 г. заболевание свиней, вызванное возбудителем АЧС, впервые зарегистрировали в Европе. К середине 2020 г. вирус АЧС выявляли на Африканском, Европейском и Азиатском континентах, Малайском архипелаге и в странах Океании [4].

До настоящего времени в мире не разработаны коммерчески доступные средства специфической профилактики АЧС. В связи с этим единственным способом борьбы с заболеванием является проведение комплекса профилактических мероприятий, ранняя диагностика с использованием современных и высокоточных методов, проведение убоя инфицированных и находящихся в зоне риска животных с введением строгих ограничительных мероприятий (карантина) [5, 6].

Одной из мер борьбы с распространением и профилактики АЧС в Российской Федерации является проведение мониторинговых исследований [7] и исследований в области карантина (перед отправкой и/или вводом новых животных из/в хозяйства) исследований, в том числе серологическими методами с использованием иммуноферментного анализа (ИФА) для качественного определения содержания антител к вирусу в сыворотках крови свиней [8, 9]. На сегодняшний день существует множество коммерческих наборов для проведения ИФА. Один из используемых в референтной лаборатории по АЧС ФГБУ «ВНИИЗЖ» наборов – INgezim PPA Compac (Ingenasa, Испания), который, по оценкам разных авторов, имеет специфичность от 98 до 100%.

По мнению Н. С. Bergeron et al., ложноположительные результаты могут быть связаны с низким качеством пробы [10]. Согласно инструкции к набору INgezim PPA Compac и рекомендациям Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), использование гемолизированных или контаминированных проб может привести к получению ложноположительных результатов в ИФА. Как указано в Руководстве Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО), сыворотки крови должны быть исследованы немедленно после взятия или помещены на хранение при температуре ниже минус 20 °С до проведения исследования, так как точный диагноз можно поставить только тогда, когда образцы находятся в удовлетворительном состоянии [11].

Однако, согласно результатам L. Mur et al. [12], при исследовании с использованием набора INgezim PPA Compac 158 сывороток крови, в числе которых 49 были умеренно и 28 – обширно гемолизированы, 11 дали ложноположительный результат и 6 – сомнительный. При этом не было выявлено зависимости между гемолизом и ложноположительными результатами.

Из общих рекомендаций известно о том, что сыворотка крови должна быть доставлена без замораживания в диагностическую лабораторию в течение первых суток и в исключительных случаях – не позднее третьего дня после взятия крови [11, 13, 14].

Действующие ветеринарно-санитарные правила Республики Беларусь, регламентирующие порядок отбора сыворотки и плазмы крови, допускают заморозку проб и их транспортирование в таком виде. При отсутствии возможности заморозки пробы сыворотки и плазмы допускается хранить и транспортировать при температуре от 2 до 6 °С в течение не более 48 ч после отбора образца крови [15].

Для серологического исследования в лабораторию допускается направлять и цельную кровь, не отделяя сыворотку, при условии (трудно осуществимом), что в пути ее не будут встряхивать и она не подвергнется гемолизу [16].

В лаборатории сыворотки (без сгустка) до исследования хранят в холодильниках при температуре (5 ± 3) °С в течение не более 7 сут. При более длительном хранении сыворотка должна быть заморожена при минус 20 °С или ниже. Повторное замораживание размороженной сыворотки не допускается [14].

Необходимо отметить, что в настоящее время на территории РФ не существует нормативного документа, регламентирующего условия хранения проб сыворотки крови для постановки ИФА при определении содержания антител к вирусу АЧС. Таковые представлены, в частности, для бруцеллеза, где сыворотки, консервированные фенолом или борной кислотой, пригодны для исследования в течение 30 сут, замороженные – в течение 3 сут после однократного оттаивания. Мутные, проросшие, гемолизированные сыворотки крови к исследованию на бруцеллез не пригодны [17].

На сегодняшний день представлены лишь условия хранения проб органов и крови, которые хранят и транспортируют в термосе при температуре от 4 до 8 °С не более 24 ч после отбора. При более длительном хранении пробы замораживают [13].

Отсутствуют литературные данные о максимально допустимом сроке хранения проб сыворотки крови свиней, в течение которого их серологический статус в ИФА остается неизменным у 95% образцов. Данный показатель был установлен для образцов, содержащих антитела против некоторых других вирусов, например, против возбудителя гепатита D стабильность анализа в сыворотке при температуре от 4 до 8 °С составляет 4 недели, от 20 до 25 °С – 5–7 дней [18].

Влияние условий хранения на серологический статус сывороток крови домашних свиней в отношении АЧС недостаточно изучено. На данный момент опубликованы работы по изучению влияния температурных режимов (50 °С, 4 °С, минус 10 °С, цикл заморозка – оттаивание), времени хранения и степени гемолиза на определение антител против *Erysipelothrix rhusiopathiae* у свиней и *Suid herpesvirus 1* у дикого кабана в гемоли-

зированных и не подвергнутых гемолизу сыворотках крови [19, 20]. Авторами работы сделан вывод о незначительном влиянии режимов хранения на определение статуса качественных образцов сывороток крови, в то время как гемолизированные пробы показали более заметное изменение, пропорциональное степени гемолиза и длительности хранения. Следует отметить, что полученные результаты по обнаружению антител к возбудителям одних болезней не применимы для других патогенов.

Целью работы являлось определение влияния температурных режимов и длительности хранения серопозитивных и серонегативных в отношении вируса АЧС сывороток крови домашних свиней на их серологический статус при постановке твердофазного ИФА (ТФ ИФА) с использованием тест-системы INgezim PPA Compac (Ingenasa, Испания) и вероятности получения ложных результатов.

Данное исследование имеет существенное прикладное значение, позволяя установить зависимость получения достоверных результатов при серодиагностике АЧС от условий хранения проб.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оборудование. Режимы хранения 4 °С, минус 20 °С и многократный цикл заморозки – оттаивания воспроизводили с помощью лабораторного холодильника ХЛ-340 (POZIS, Россия). Инкубацию сывороток крови при постановке ИФА проводили в термощейкере PST-60HL-4 (BioSan, Латвия). Результаты учитывали с использованием спектрофотометра Multiskan FC (Thermo Fisher Scientific, Финляндия).

Образцы. В опыте использовали 10 серопозитивных сывороток крови, полученных на 25–26-е сут после экспериментального заражения свиней штаммом «ВНИИЗЖ/АЧС-VERO (40)», и 10 серонегативных сывороток, полученных из крови клинически здоровых домашних свиней (свиноводческий комплекс, Московская обл.). Образцы не имели признаков гемолиза и были получены в соответствии с «Правилами взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования» [16].

Тест-система. Образцы сывороток крови исследовали с использованием тест-системы INgezim PPA Compac (Ingenasa, Испания) для твердофазного ИФА (ТФ ИФА) и тестировались в двух повторностях. Согласно инструкции к набору, статус исследуемых сывороток выражали через коэффициент ингибиции, вычисляемый по формуле:

$$x\% = \frac{NC - \text{SAMPLE OD}}{NC - PC} \times 100,$$

где NC – значение оптических единиц (о. е.) отрицательного контроля;

PC – значение оптических единиц (о. е.) положительного контроля;

SAMPLE OD – значение оптических единиц (о. е.) испытуемой сыворотки.

Интерпретация результата:

- при $x < 40\%$ результат считается отрицательным (т. е. в образце не выявлены специфические антитела);
- при $x \geq 50\%$ результат считается положительным (т. е. в образце обнаружены специфические антитела);
- при $40\% > x < 50\%$ результат трактуется как сомнительный.

Таблица
Результаты тестирования сывороток крови методом ТФ ИФА

Table
Serum testing using blocking ELISA

Условие хранения	Статус сыворотки	Номер сыворотки	Среднее значение коэффициента ингибиции (%), (n = 2)					Результат	Условие хранения	Статус сыворотки	Номер сыворотки	Среднее значение коэффициента ингибиции (%), (n = 2)					Результат
			0-й день	5-й день	15-й день	29-й день	53-й день					0-й день	5-й день	15-й день	29-й день	53-й день	
Цикл заморозка – оттаивание	Серонегативные	1	17,0	26,4	23,7	22,7	28,9	–	при 4 °С	Серонегативные	1	17,0	19,8	20,1	10,5	26,6	–
		2	16,3	25,1	25,2	20,3	35,4	–			2	16,3	19,9	19,1	11,2	29,8	–
		3	23,2	20,8	18,2	21,2	22,3	–			3	23,2	12,3	21,2	15,8	16,5	–
		4	21,6	23,5	21,4	22,8	26,1	–			4	21,6	19,3	22,3	13,0	23,5	–
		5	22,7	26,1	23,3	22,9	27,3	–			5	22,7	20,2	20,8	11,2	27,4	–
		6	25,5	24,0	28,0	24,1	31,6	–			6	25,5	16,5	19,7	13,4	26,9	–
		7	20,3	22,3	21,1	20,1	19,1	–			7	20,3	19,6	20,4	15,7	16,2	–
		8	20,5	22,8	23,8	19,7	22,6	–			8	20,5	20,5	20,1	14,1	26,1	–
		9	17,3	20,6	18,1	16,1	20,5	–			9	17,3	17,0	11,1	4,3	23,6	–
		10	23,3	23,5	26,5	21,2	32,0	–			10	23,3	17,0	21,5	13,5	25,9	–
	Серопозитивные	11	94,1	88,1	90,5	92,0	90,6	+		11	94,1	87,3	89,0	89,3	87,2	+	
		12	100,6	96,4	98,0	97,3	96,0	+		12	100,6	93,3	95,9	96,8	94,3	+	
		13	97,1	91,1	92,8	92,7	91,4	+		13	97,1	93,5	93,4	90,3	92,0	+	
		14	98,3	90,6	91,0	91,8	90,2	+		14	98,3	90,2	90,2	88,6	88,1	+	
		15	88,1	93,7	95,0	94,9	92,3	+		15	88,1	93,7	95,0	95,6	92,4	+	
		16	98,3	93,8	93,9	95,0	91,8	+		16	98,3	92,5	95,3	93,8	91,3	+	
		17	86,7	85,4	83,8	87,2	85,5	+		17	86,7	84,2	81,7	80,3	83,7	+	
		18	97,0	94,5	94,7	96,8	93,5	+		18	97,0	93,1	93,4	94,4	92,8	+	
		19	94,8	91,6	94,7	93,5	89,9	+		19	94,8	93,1	93,0	94,9	90,8	+	
		20	99,8	98,6	99,1	99,3	95,5	+		20	99,8	96,2	96,8	97,9	93,5	+	
при минус 20 °С	Серонегативные	1	17,0	20,8	19,9	18,8	25,4	–	при 20 °С	Серонегативные	1	17,0	13,1	17,0	19,8	11,2	–
		2	16,3	20,3	21,3	22,7	26,0	–			2	16,3	18,8	20,9	20,6	13,0	–
		3	23,2	24,0	22,2	24,2	29,4	–			3	23,2	19,3	14,0	17,0	19,1	–
		4	21,6	20,9	23,2	20,3	33,8	–			4	21,6	18,6	19,9	22,1	20,8	–
		5	22,7	16,5	20,0	19,8	7,1	–			5	22,7	16,6	22,0	21,9	10,2	–
		6	25,5	19,5	20,0	21,8	24,4	–			6	25,5	19,4	18,1	16,6	15,4	–
		7	20,3	21,1	22,2	23,4	28,7	–			7	20,3	18,7	20,9	17,7	18,9	–
		8	20,5	20,0	24,4	22,9	35,4	–			8	20,5	18,9	20,3	21,1	19,2	–
		9	17,3	10,2	11,4	15,8	15,9	–			9	17,3	10,2	17,2	17,3	6,3	–
		10	23,3	20,0	25,4	20,1	28,7	–			10	23,3	17,3	22,0	18,0	18,8	–
	Серопозитивные	11	94,1	89,2	90,9	91,8	89,2	+		11	94,1	89,1	89,1	90,5	87,5	+	
		12	100,6	96,2	96,2	97,6	94,9	+		12	100,6	97,9	97,7	98,7	92,6	+	
		13	97,1	89,9	91,2	91,7	89,7	+		13	97,1	91,3	91,2	94,6	88,1	+	
		14	98,3	89,8	90,5	92,6	90,9	+		14	98,3	88,3	88,4	90,9	85,9	+	
		15	88,1	93,3	94,2	95,3	92,6	+		15	88,1	95,4	95,2	95,5	92,4	+	
		16	98,3	94,3	95,3	95,8	93,2	+		16	98,3	95,2	95,5	95,8	92,3	+	
		17	86,7	82,9	80,5	83,0	81,9	+		17	86,7	81,0	83,4	85,5	79,2	+	
		18	97,0	91,2	90,5	92,8	91,3	+		18	97,0	92,3	95,3	95,7	90,8	+	
		19	94,8	91,6	93,8	94,9	93,1	+		19	94,8	92,6	93,5	93,7	91,7	+	
		20	99,8	98,2	97,4	98,4	95,3	+		20	99,8	96,9	97,8	98,7	94,0	+	

«+» – результат положительный (positive result); «–» – результат отрицательный (negative result).

Экспериментальные сыворотки крови хранили при следующих температурных режимах:

1. Хранение при минус 20 °С;
2. Хранение при 4 °С;
3. Хранение при комнатной температуре (от 20 до 25 °С);
4. Многократный цикл заморозки – оттаивания (ежедневная заморозка при минус 20 °С в течение 23 ч с последующим оттаиванием при комнатной температуре в течение часа).

Анализ осуществляли в день начала эксперимента (нулевой день), на 5, 15, 29 и 53-й дни после начала опыта.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Первое тестирование, для подтверждения серологического статуса экспериментальных сывороток крови, провели в день начала эксперимента.

Экспериментальные образцы разделили на 4 части и хранили при различных температурных режимах в течение 53 дней. Каждую группу опытных сывороток крови анализировали согласно плану опыта. Результаты представлены в таблице.

Полученные данные демонстрируют, что при изменении коэффициента ингибции в течение эксперимента статус сывороток в ТФ ИФА оставался неизменным.

Следуя обобщенным рекомендациям по хранению проб сывороток крови для лабораторной диагности-

ки [11, 14, 15], эталонными значениями считали результаты, полученные при исследовании сывороток, хранящихся в замороженном виде. Вариация значений зависела от технических условий реализации метода (температура, влажность, длительность хранения набора и т. д.).

Динамика изменения коэффициентов ингибции серонегативных и серопозитивных образцов отражена на рисунке 1. Из представленных на нем данных, касающихся отрицательных сывороток крови, видно, что:

- среднее значение коэффициента ингибции в начале эксперимента составило 20,8%;
- для сывороток, хранящихся при минус 20 °С, среднее значение коэффициента ингибции составляло 21,5%, минимальное – 7,1% (53-й день), максимальное – 35,4% (53-й день);
- для сывороток, подвергнутых циклу заморозки – оттаивания, среднее значение коэффициента ингибции составляло 22,8%, минимальное – 16,1% (29-й день), максимальное – 35,4% (53-й день);
- для сывороток, хранящихся при 4 °С, среднее значение коэффициента ингибции составляло 19%, минимальное – 4,3% (29-й день), максимальное – 29,8% (53-й день);
- для сывороток, хранящихся при 20 °С, среднее значение составляло 18,3%, минимальное – 6,3% (53-й день), максимальное – 25,5% (нулевой день).

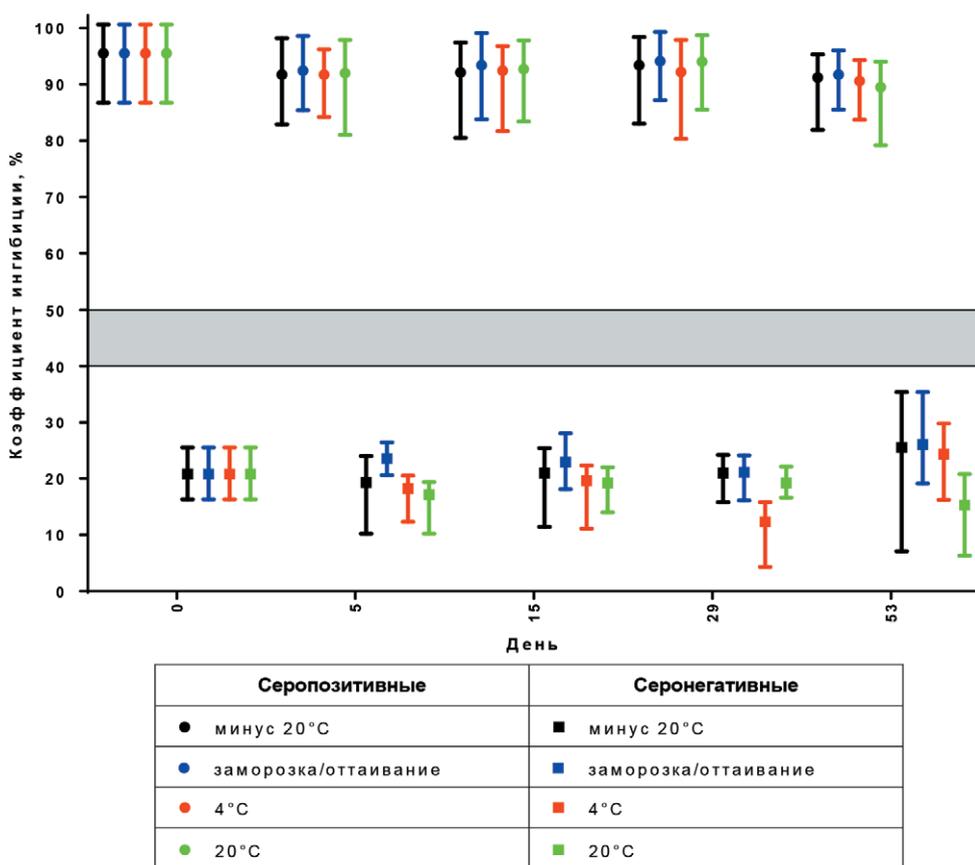


Рис. 1. Динамика изменения коэффициентов ингибции серонегативных и серопозитивных образцов. Линиями при коэффициентах ингибции 40 и 50% отмечены границы отрицательного и положительного результатов

Fig. 1. Dynamics of inhibition coefficients for seronegative and seropositive samples. Lines in case of 40% and 50% inhibition are the negative/positive cut-off

Изменение разницы коэффициентов ингибции относительно эталонных образцов для отрицательных сывороток крови представлено на рисунке 2.

Установлено, что на протяжении всего исследования коэффициент ингибции серонегативных сывороток крови, подвергнутых циклу заморозки – оттаивания был выше эталонных значений, но не превышал 4,2%, а в среднем отличался на 1,7%; данный показатель сывороток, хранившихся при 4 °С, был ниже эталонных значений, но не превышал 8,7%, а в среднем отличался на 3,1%; коэффициент ингибции сывороток, хранившихся при 20 °С, был ниже эталонных значений, но не превышал 10,2%, а в среднем отличался на 4%.

Исходя из данных, полученных при исследовании серопозитивных сывороток крови свиней (рис. 1), видно, что:

– начальное значение коэффициента ингибции составляло в среднем 95,5%;

– для сывороток, хранящихся при минус 20 °С, среднее значение данного показателя составляло 92,8%, минимальное – 80,5% (15-й день), максимальное – 100,6% (нулевой день);

– для сывороток, подвергнутых циклу заморозки – оттаивания, среднее значение коэффициента ингибции составляло 93,4%, минимальное – 83,8% (15-й день), максимальное – 100,6% (нулевой день);

– для сывороток, хранящихся при 4 °С, среднее значение коэффициента ингибции составляло 92,5%, минимальное – 80,3% (29-й день), максимальное – 100,6% (нулевой день);

– для сывороток, хранящихся при 20 °С среднее значение коэффициента ингибции составляло 92,7%, минимальное – 79,2% (53-й день), максимальное – 100,6% (нулевой день).

Разница коэффициентов ингибции положительных образцов относительно сывороток крови, хранящихся при минус 20 °С, отражена на рисунке 3.

Как видим, коэффициент ингибции серопозитивных сывороток крови, подвергнутых циклу заморозки – оттаивания, на протяжении всего периода исследования был выше эталонных значений, но не превышал 1,3%, а в среднем отличался на 0,8%.

Коэффициент ингибции сывороток крови, хранившихся при 4 °С, в течение 15 дней был выше эталонного значения (максимально – на 0,3%), затем ниже его (максимально – на 1,2%), а в среднем отличался на 0,4%.

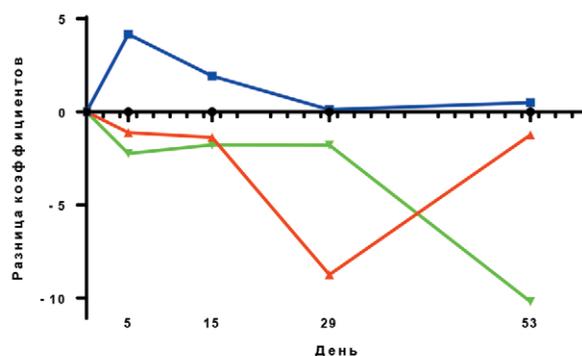
Коэффициент ингибции сывороток крови, хранившихся при 20 °С, до 29-го дня был выше значения эталонных образцов (максимально – на 0,7%), а затем ниже на 1,8%, а в среднем отличался на 0,1%.

В группе серопозитивных сывороток крови, хранящихся при 4 °С, коэффициент ингибции для отдельных образцов в течение исследования варьировал в пределах от 4,3 до 23,6%. Однако статус образцов на протяжении всего эксперимента не менялся.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного моделирования различных режимов хранения экспериментальных сывороток крови свиней, положительных и отрицательных по наличию антител к вирусу АЧС, были получены данные об отсутствии изменения их серологического статуса с течением времени.

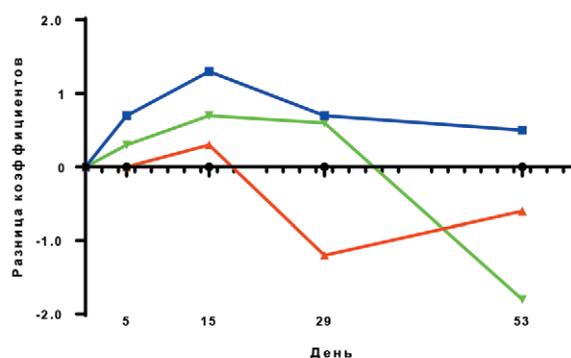
Исследуемые образцы сывороток хранились при различных температурных режимах (минус 20 °С, 4 °С,



Режим / день	0	5	15	29	53
минус 20 °С	0	0	0	0	0
заморозка/оттаивание	0	4,2	1,9	0,1	0,5
4 °С	0	-1,1	-1,4	-8,7	-1,2
20 °С	0	-2,2	-1,8	-1,8	-10,2

Рис. 2. Изменение коэффициентов ингибции серонегативных сывороток крови относительно значений эталонных образцов (хранение при минус 20 °С)

Fig. 2. Changes of inhibition coefficients of seronegative sera as compared to reference sera (storage at minus 20 °C)



Режим / день	0	5	15	29	53
минус 20 °С	0	0	0	0	0
заморозка/оттаивание	0	0,7	1,3	0,7	0,5
4 °С	0	0	0,3	-1,2	-0,6
20 °С	0	0,3	0,7	0,6	-1,8

Рис. 3. Изменение коэффициентов ингибции серопозитивных сывороток крови относительно эталонных образцов (хранение при минус 20 °С)

Fig. 3. Changes of inhibition coefficients of seropositive sera as compared to reference sera (storage at minus 20 °C)

20 °С, цикл заморозки – оттаивания) в течение 53 дней. Несмотря на варьирование показателей коэффициентов ингибции отрицательных и положительных образцов на протяжении исследуемого периода по отношению к эталонным значениям, в ТФ ИФА получали качественный результат, что говорит об отсутствии или незначительном влиянии использованных условий хранения на результаты исследования.

Полученные данные согласуются с результатами других авторов, проводивших аналогичные исследования по выявлению антител к другим возбудителям инфекций. В работе E. J. Neumann and K. N. Bonistalli сывороточные антитела оказались значительно более устойчивыми, чем считалось ранее, а значения оптической плотности были стабильны даже в условиях грубого нарушения температурного режима хранения [19, 20].

Однако методология, примененная в данном исследовании, имеет некоторые ограничения. В работе использовалась тест-система только одного производителя, титр антител в сыворотках не определялся, а также не тестировались слабоположительные пробы.

Следовательно, для определения причины получения ложных результатов необходимо проведение дальнейших исследований и изучение сохранности образцов сывороток крови для исследования на АЧС, учитывая, что биологические образцы, получаемые от животных, не однородны по своему составу, особенно в случае присутствия патогенной микрофлоры.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований установлено, что при хранении проб сывороток крови свиней в смоделированных температурных режимах статус исследуемых на АЧС позитивных с высоким изначальным коэффициентом ингибции и негативных сывороток крови при постановке ТФ ИФА с использованием тест-системы INgezim PPA Compac (Ingensa, Испания) не изменялся на протяжении 53 дней.

Сыворотки крови домашних свиней, отобранные в соответствии с действующими правилами, возможно хранить в вышеперечисленных условиях до 53 дней (срок наблюдения) при условии их последующего исследования соответствующим набором. Это позволит упростить их транспортировку в течение длительного времени при невозможности заморозки. Также, в случае необходимости проведения дополнительных исследований, появляется возможность многократного исследования одного и того же образца в течение длительного хранения.

Однако, пока не изучено влияние условий хранения на статус сывороток крови при исследовании на АЧС с помощью других наборов и методов (иммуноблоттинга, иммунопероксидазного, иммунохроматографического анализа, иммуноферментного анализа с использованием комплексного антигена и др.), общая рекомендация остается прежней – доставлять в лабораторию образцы для исследований в максимально короткие сроки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 2, 4, 5, 8, 10, 12, 19, 20 см. REFERENCES)

1. Ремыга С. Г., Першин А. С., Шевченко И. В., Иголкин А. С., Шевцов А. А. Клинические и патологоанатомические изменения у диких европейских кабанов и домашних свиней при заражении вирусом африканской чумы свиней. *Ветеринария сегодня*. 2016; 3 (18): 46–51. Режим доступа: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/260>.
3. Пособие по подготовке чрезвычайных планов действий на случай эпидемии африканской чумы свиней. Под ред. М.-Л. Пенрит, В. Губерти, К. Деннер, Х. Луборт. *Руководство ФАО по здравоохранению и воспроизводству животных*. № 8. Рим: ФАО; 2011. 78 с. Режим доступа: <http://www.fao.org/3/i1196r/i1196r.pdf>.
6. Груздев К. Н., Караулов А. К., Иголкин А. С. Опыт борьбы с африканской чумой свиней в Российской Федерации и его значение для других стран. *Ветеринария сегодня*. 2020; 1 (32): 38–43. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-38-43.

7. Шевцов А. А., Петрова О. Н., Ремыга С. Г., Першин А. С., Груздев К. Н., Иголкин А. С. Анализ проведения лабораторных исследований по ряду вирусных болезней свиней на территории России в 2011–2017 гг. *Ветеринария сегодня*. 2018; 1 (24): 42–48. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-1-24-42-48.

9. Першин А. С., Шевченко И. В., Иголкин А. С., Жуков И. Ю., Власова Н. Н., Мануйлова О. А. Динамика антителообразования при экспериментальном заражении вирусом африканской чумы свиней. *Ветеринария Кубани*. 2019; 4: 3–7. DOI: 10.33861/2071-8020-2019-4-3-7.

11. Бельтран Алькрудо Д., Ариас М., Гайардо К., Крамер С., Пенрит М. Л. Африканская чума свиней: обнаружение и диагностика. *Руководство для ветеринаров. Руководство ФАО по здравоохранению и воспроизводству животных*. № 19. Рим: ФАО; 2017. 93 с. Режим доступа: <http://www.fao.org/3/i7228r/i7228r.pdf>.

13. ГОСТ 28573-90 Свиньи. Методы лабораторной диагностики африканской чумы. М.: Стандартинформ; 2005. 9 с. Режим доступа: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4294826/4294826183.pdf>.

14. Изучение популяционного иммунитета к гриппу у населения Российской Федерации: методические указания (МУ 3.1.3490-17). М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2018. 34 с. Режим доступа: <https://www.meganorm.ru/Data2/1/4293738/4293738228.pdf>.

15. Ветеринарно-санитарные правила отбора проб для контроля содержания вредных веществ и их остатков в живых животных и продуктах животного происхождения: Постановление Министерства сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь от 23.09.2010 № 57. Режим доступа: <https://mshp.gov.by/print/documents/technical-acts/e13f0df74187a8fa.html>.

16. Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования: утв. Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР 24.06.1971. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200109238>.

17. ГОСТ 34105-2017 Животные. Лабораторная диагностика бруцеллеза. Серологические методы. М.: Стандартинформ; 2017. 23 с. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200145963>.

18. ГОСТ Р 53079.4-2008 Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа. М.: Стандартинформ; 2009. 65 с. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200072566>.

REFERENCES

1. Remyga S. G., Pershin A. S., Shevchenko I. V., Igolkin A. S., Shevtsov A. A. Clinical and post-mortem signs in European wild boars and domestic pigs infected with African swine fever virus. *Veterinary Science Today*. 2016; 3 (18): 46–51. Available at: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/260>. (in Russian)
2. Alonso C., Borca M., Dixon L., Revilla Y., Rodriguez F., Escibano J. M., ICTV Report Consortium. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Asfarviridae*. *J. Gen. Virol.* 2018; 99 (5): 613–614. DOI: 10.1099/jgv.0.001049.
3. Preparation of African swine fever contingency plans. Ed. by M.-L. Penrith, V. Guberti, K. Depner, J. Lubroth. *FAO Animal Production and Health Manual*. No. 8. Rome: FAO; 2009. 70 p. Available at: <http://www.fao.org/3/i1196e/i1196e.pdf>.
4. World Animal Health Information and Analysis Department. African swine fever (ASF). Report No. 12: March 01 – March 14, 2019. Available at: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/Disease_cards/ASF/Report_12_Current_situation_ASF.pdf.
5. Galindo I., Alonso C. African swine fever virus: A review. *Viruses*. 2017; 9 (5): 103. DOI: 10.3390/v905103.
6. Gruzdev K. N., Karaulov A. K., Igolkin A. S. Experience in African swine fever control in the Russian Federation and its value for the other countries. *Veterinary Science Today*. 2020; 1 (32): 38–43. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-1-32-38-43.
7. Shevtsov A. A., Petrova O. N., Remyga S. G., Pershin A. S., Gruzdev K. N., Igolkin A. S. Analysis of laboratory tests for several viral swine diseases in Russia in 2011–2017. *Veterinary Science Today*. 2018; 1 (24): 42–48. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-1-24-42-48.
8. Pershin A., Shevchenko I., Igolkin A., Zhukov I., Mazloum A., Aro-nova E., et al. A long-term study of the biological properties of ASF virus isolates originating from various regions of the Russian Federation in 2013–2018. *Vet. Sci.* 2019; 6 (4): 99. DOI: 10.3390/vetsci6040099.
9. Pershin A. S., Shevchenko I. V., Igolkin A. S., Zhukov I. Yu., Vlasova N. N., Manuylova O. A. Dynamics of antibodies production after experimental challenge with ASF virus. *Veterinaria Kubani*. 2019; 4: 3–7. DOI: 10.33861/2071-8020-2019-4-3-7. (in Russian)
10. Bergeron H. C., Glas P. S., Schumann K. R. Diagnostic specificity of the African swine fever virus antibody detection enzyme-linked immunosorbent assay in feral and domestic pigs in the United States. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): 1665–1668. DOI: 10.1111/tbed.12717.

11. Beltrán-Alcrudo D., Arias M., Gallardo C., Kramer S., Penrith M. L. 2017. African swine fever: detection and diagnosis – A manual for veterinarians. *FAO Animal Production and Health Manual. No. 19*. Rome: FAO; 2017. 88 p. Available at: <http://www.fao.org/3/i7228e/i7228e.pdf>.

12. Mur L., Boadella M., Martínez-López B., Gallardo C., Gortazar C., Sánchez-Vizcaíno J. M. Monitoring of African swine fever in the wild boar population of the most recent endemic area of Spain. *Transbound. Emerg. Dis.* 2012; 59 (6): 526–531. DOI: 10.1111/j.1865-1682.2012.01308.x.

13. GOST 28573-90 Pigs. Methods of laboratory diagnostics of african plague. M.: Standartinform; 2005. 9 p. Available at: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4294826/4294826183.pdf>. (in Russian)

14. Examination of the population immunity against influenza in people in the Russian Federation [Izuchenie populyacionnogo immuniteta k grippu u naseleniya Rossijskoj Federacii]: Methodical Guidelines (MG 3.1.3490-17). M.: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; 2018. 34 p. Available at: <https://www.meganorm.ru/Data2/1/4293738/4293738228.pdf>. (in Russian)

15. Rules of veterinary and sanitary sampling for the control of harmful substances and their residues in live animals and products of animal origin [Veterinarno-sanitarnye pravila otbora prob dlya kontrolya sodержaniya vrednyh veshchestv i ih ostatkov v zhivyyh zhivotnyh i produktah zhivotnogo proiskhozhdeniya]: Regulation of the Ministry of Agriculture of the Republic of Belarus as of 23.09.2010 No. 57. Available at: <https://mshp.gov.by/print/documents/technical-acts/e13f0df74187a8fa.html>. (in Russian)

16. Rules of sampling pathological materials, blood, feed and their delivery for laboratory testing [Pravila vzyatiya patologicheskogo materiala, krovi, kormov i peresytki ih dlya laboratornogo issledovaniya]: approved by the Main Veterinary Department of the USSR Ministry of Agriculture on 24.06.1971. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200109238>. (in Russian)

17. GOST 34105-2017 Animals. Laboratory diagnostics of brucellosis. Serological methods. M.: Standartinform; 2017. 23 p. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200145963>. (in Russian)

18. GOST R 53079.4-2008 Clinical laboratory technologies. Quality assurance of clinical laboratory tests. Part 4. Rules for conducting of preanalytical stage. M.: Standartinform; 2009. 65 p. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200072566>. (in Russian)

19. Boadella M., Gortázar C. Effect of haemolysis and repeated freeze-thawing cycles on wild boar serum antibody testing by ELISA. *BMC Res. Notes*. 2011; 4:498. DOI: 10.1186/1756-0500-4-498.

20. Neumann E. J., Bonistalli K. N. Effect of blood sample handling post-collection on *Erysipelothrix rhusiopathiae* antibody titres. *Vet. J.* 2009; 180 (3): 325–329. DOI: 10.1016/j.tvjl.2008.07.020.

Поступила 22.04.2021

Принята в печать 20.07.2021

Received on 22.04.2021

Approved for publication on 20.07.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шотин Андрей Романович, аспирант, ведущий биолог референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Жуков Иван Юрьевич, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Першин Андрей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Мазлум Али, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Шевченко Иван Вячеславович, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Иголкин Алексей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий референтной лабораторией по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Мануйлова Ольга Анатольевна, биолог референтной лаборатории 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.

Andrey R. Shotin, Post-Graduate Student, Leading Biologist, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Ivan Yu. Zhukov, Candidate of Science (Biology), Junior Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Andrey S. Pershin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Ali Mazloun, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Ivan V. Shevchenko, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Alexey S. Igolkin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for African swine fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Olga A. Manuylova, Biologist, 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.



Сравнение иммуногенной активности вакцин против низкопатогенного гриппа птиц подтипа H9N2, изготовленных на основе вирусов генетических линий G1 и Y280

С. В. Фролов¹, Л. О. Щербаклова², Н. В. Мороз³, В. Н. Ирза⁴, В. Ю. Кулаков⁵

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

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

² ORCID 0000-0001-5434-6179, e-mail: scherbakova@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-9672-8594, e-mail: moroz@arriah.ru

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

⁵ ORCID 0000-0002-1898-4576, e-mail: kulakov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В связи с генетическим разнообразием вирусов низкопатогенного гриппа птиц H9N2 представлялось целесообразным изучение иммуногенной активности вакцин, изготовленных на основе антигенов штаммов A/chicken/Amursky/03/12 и A/chicken/Chelyabinsk/314-1/20 – представителей генетических линий Y280 и G1 соответственно, циркулирующих на территории Российской Федерации. Поскольку низкая патогенность возбудителя не позволяет продемонстрировать протективные свойства вакцин прямыми методами оценки иммуногенности препаратов (например, заболеваемость и смертность), применяли косвенные методы: определение антигенной родственности штаммов, напряженности поствакцинального гуморального гомо- и гетерологического иммунитета птиц, оценка подавления (редукции) синтеза генома вируса после контрольного заражения в организме вакцинированных птиц. Было установлено, что использованные в составе вакцин штаммы имели некоторые антигенные различия, которые были обнаружены в реакции торможения гемагглютинации при контроле поствакцинального иммунного ответа птиц. В целом обе вакцины индуцировали напряженный гуморальный иммунитет у привитых птиц ($9-10 \log_2$ в реакции торможения гемагглютинации) с некоторой разницей в величине иммунного ответа при использовании гомо- и гетерологического антигенов. Также было достоверно установлено, что гомологичный иммунитет обеспечивал более выраженное подавление репродукции вируса при экспериментальном заражении. Степень подавления (редукции) синтеза генома вирулентного вируса низкопатогенного гриппа птиц в организме вакцинированных особей после их заражения вирусом H9N2 генетической линии G1 была выше у птиц, привитых гомологичной вакциной при одинаковых сроках детекции генома в пробах биоматериала. Показано, что с учетом антигенных и иммуногенных различий между штаммами вируса низкопатогенного гриппа птиц H9N2 целесообразно использование обоих антигенных компонентов в составе инактивированных вакцин.

Ключевые слова: вакцина, низкопатогенный вирус гриппа птиц подтипа H9N2, иммуногенность вакцины, гуморальный иммунитет

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

Для цитирования: Фролов С. В., Щербаклова Л. О., Мороз Н. В., Ирза В. Н., Кулаков В. Ю. Сравнение иммуногенной активности вакцин против низкопатогенного гриппа птиц подтипа H9N2, изготовленных на основе вирусов генетических линий G1 и Y280. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 224–229. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-224-229.

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. Юрьевец, e-mail: frolov@arriah.ru.

Comparative testing of vaccines based on viruses of genetic lineages G1 and Y280 for their potency against low pathogenic avian influenza H9N2

S. V. Frolov¹, L. O. Scherbakova², N. V. Moroz³, V. N. Irza⁴, V. Yu. Kulakov⁵

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

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

² ORCID 0000-0001-5434-6179, e-mail: scherbakova@arriah.ru

³ ORCID 0000-0002-9672-8594, e-mail: moroz@arriah.ru

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

⁵ ORCID 0000-0002-1898-4576, e-mail: kulakov@arriah.ru

SUMMARY

Due to the genetic diversity of low pathogenic avian influenza (LPAI) viruses of subtype H9N2, it deemed appropriate to study the potency of the vaccines based on the antigens of strains A/chicken/Amursky/03/12 and A/chicken/Chelyabinsk/314-1/20 that represent currently circulating in the Russian Federation genetic lineages Y280 and G1, respectively. While low pathogenicity of the agent does not allow demonstrating the vaccine protective properties by the direct methods generally used for potency assessment (e.g. morbidity and mortality), the indirect methods were used: determination of antigenic relatedness of the strains, level of the postvaccinal homologous and heterologous humoral immunity, analysis of the virus genome synthesis inhibition (reduction) in vaccinated birds following their challenge. The strains used in the vaccines were determined to have some antigenic differences, which were demonstrated in the hemagglutination inhibition (HI) assay during control of the postvaccinal immunity in birds. Both vaccines generally induced strong humoral immunity in vaccinated birds (9–10 log₂ determined using HI assay) with some difference in the levels of the immune response following the use of homologous or heterologous antigens. It was also reliably determined that homologous immunity facilitated more expressed inhibition of the virus reproduction after the challenge. The level of inhibition (reduction) of the virulent LPAI virus genome synthesis in vaccinated birds following their challenge with H9N2 virus of genetic lineage G1 was higher in birds following homologous vaccination, while the time periods of the genome detection in the biomaterial samples were the same. It was demonstrated that due to antigenic and immunogenic differences between LPAI H9N2 strains, use of both antigenic components in the inactivated vaccines is appropriate.

Keywords: vaccines, low pathogenic avian influenza (LPAI), vaccine potency, humoral immunity

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

For citation: Frolov S. V., Scherbakova L. O., Moroz N. V., Irza V. N., Kulakov V. Yu. Comparative testing of vaccines based on viruses of genetic lineages G1 and Y280 for their potency against low pathogenic avian influenza H9N2. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 224–229. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-224-229.

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

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

Вирусы низкопатогенного гриппа птиц (НГП) H9N2 широко распространены у домашних птиц в странах Африки, Азии и Ближнего Востока. Основываясь на генетических особенностях, выделяют две основные генетические группы вирусов H9N2 – «североамериканскую» и «евразийскую», циркулирующие среди домашних и диких птиц. Евразийская группа делится на три основных генотипа: G1, Y280 и Y439. Вирусы генетических линий G1 и Y280 демонстрируют наибольшее географическое распространение, простирающееся от Восточной Азии до Ближнего Востока [1–4].

В 2012, 2017 и 2018 гг. случаи заболевания птиц НГП в промышленном птицеводстве Российской Федерации вызывал вирус H9N2 линии Y280 [5–7]. В 2018 г. вирус низкопатогенного гриппа птиц H9N2 генетической линии G1 был впервые изолирован в Амурской области от диких птиц [8].

В 2019–2020 гг. вирус низкопатогенного гриппа H9N2 линии G1 был выявлен у птиц, выращиваемых на промышленных птицеводческих предприятиях Уральского региона (Челябинская обл. и Пермский край), а также в хозяйствах европейской части страны [5–7, 9].

Ввиду ощутимого экономического ущерба, наносимого данной инфекцией, в ряде стран активно проводится вакцинопрофилактика НГП H9N2: Израиль (с 2003 г.), Южная Корея (с 2007 г.). Лидером в профилактике НГП подтипа H9N2 является Китай (с 1998 г.) [1].

В 2012 г. в ФГБУ «ВНИИЗЖ» была разработана инактивированная ассоциированная эмульсионная вакцина против НГП H9N2 и Ньюкаслской болезни и налажен серийный выпуск препарата. В качестве производственного штамма в составе вакцины используется вирус H9N2 линии Y280, выделенный в 2012 г. от кур на птицефабрике в Амурской области. В настоящее время

данная вакцина успешно применяется в промышленном птицеводстве РФ.

В связи с генетическим разнообразием вирусов НГП H9N2 представлялось целесообразным изучение иммуногенной активности вакцин против гриппа птиц H9N2 на основе антигенов разных сублиний вирусов, циркулирующих на территории РФ. Поскольку низкая патогенность возбудителя не позволяет продемонстрировать протективные свойства вакцин прямыми методами оценки иммуногенности препаратов (например, заболеваемость и смертность), применяли косвенные методы: определение антигенной родственности штаммов, напряженности поствакцинального гуморального гомо- и гетерологического иммунитета птиц, оценки подавления (редукции) синтеза генома вируса после контрольного заражения в организме вакцинированных птиц.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Антигены. В эксперименте использовали антигены следующих штаммов вируса НГП подтипа H9N2:

– A/chicken/Chelyabinsk/314-1/20 (генотип G1), инфекционная активность до инактивации 8,75 Ig ЭИД₅₀/см³, гемагглютинирующая активность 9 log₂ ГАЕ, обозначен как «Челябинск-20»;

– A/chicken/Amursky/03/12 (генотип Y280), инфекционная активность до инактивации 8,25 Ig ЭИД₅₀/см³, гемагглютинирующая активность 9 log₂ ГАЕ, обозначен как «Амурский-12».

Для стандартизации содержания антигена в прививной дозе, установленного в соответствии с инфекционным титром до инактивации, перед эмульгированием проводили разведение инактивированной суспензии вируса штамма «Челябинск-20» (в 3 раза) с таким расчетом, чтобы в прививной дозе вакцины содержалось

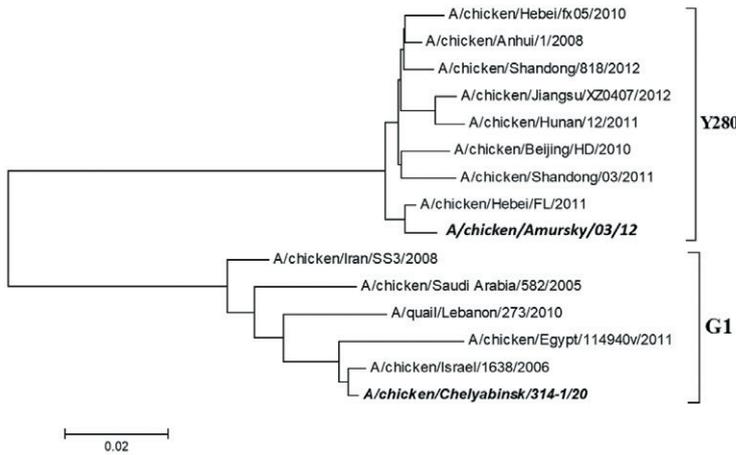


Рис. Филогенетическое древо, построенное методом NJ с помощью пакета программ MEGA 6.0 на основе выравнивания нуклеотидной последовательности гена HA НГП Н9

Fig. Phylogenetic tree constructed on the basis of LPAI H9 HA gene alignment using NJ method and MEGA 6.0 software

равное количество антигенов вируса НГП.

Принадлежность вирусов к разным генетическим линиям показана на рисунке.

Вакцины. Использованные в эксперименте две вакцины в качестве активного компонента содержали смесь равных объемов антигенов вируса НГП и вируса ньюкаслской болезни:

– экспериментальная вакцина с антигеном штамма «Челябинск-20», далее обозначали как «Вакцина шт. «Челябинск-20» (G1);

– экспериментальная вакцина с антигеном штамма «Амурский-12», далее обозначали как «Вакцина шт. «Амурский-12» (Y280)».

При изготовлении вакцин активный компонент (антиген) объединяли с масляным адьювантом Montanide ISA 70 (Seppic, Франция) в соотношении 30:70 (% по весу) и эмульгировали на высокоскоростном лабораторном смесителе Silverson (Англия) при скорости 6000 об/мин в течение 5 мин.

Вирус НГП для контрольного заражения. В эксперименте использовали вирус генетической линии G1 – A/chicken/Chelyabinsk/314-1/20 H9N2 («Челябинск-20») – в виде суспензии, приготовленной из лиофилизата с исходной инфекционной активностью 8,95 Ig ЭИД₅₀/см³.

Птица. Эксперимент проводили на цыплятах яичного направления в возрасте 80 сут из хозяйства, благополучного по острым инфекционным болезням птиц.

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 эксперимента. Соответственно тестируемому препарату сформировали две группы птиц по 20 голов в каждой. Вакцины вводили внутримышечно в область груди в объеме 0,5 см³.

Через 28 сут после иммунизации птиц обеих групп заражали вирусом «Челябинск-20». Вирусосодержащую

суспензию вводили перорально в объеме 1 см³, инфицирующая доза составила 7,3 Ig ЭИД₅₀.

В процессе эксперимента после заражения ежедневно, иногда с интервалом в один день, в обеих группах птиц проводили отбор ротоглоточных и клоакальных проб (мазков) и исследовали их методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ) для детекции генома вируса контрольного заражения. Всего было отобрано 12 проб каждого вида материала.

Перед заражением и через 15 сут после него у всех цыплят отбирали пробы крови для сравнительной оценки титров антител к вирусу НГП в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) с антигенами вирусов двух разных генетических линий.

Методы исследований. Обнаружение генома вируса в биопробах и определение порогового цикла амплификации проводили в соответствии с МУ 45-16 «Методические указания по выявлению РНК вируса гриппа птиц типа А методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени» [10].

Серологические исследования. Реакцию торможения гемагглютинации (РТГА) выполняли по общепринятой методике с использованием диагностического набора производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» для определения наличия антител к вирусу гриппа птиц подтипа Н9 (антиген вируса H9N2 генетической линии Y280) и полученного при изготовлении образца вакцины антигена вируса H9N2 генетической линии G1. Положительными титрами антител считали значения $\geq 4 \log_2$ ($\geq 1:16$).

Статистическая обработка данных. Проводили анализ существенности различий количественных показателей. Использовали непараметрический метод множественных сравнений Миллера [11, с. 141] для k -числа выборок (групп), основанный на проверке выполнимости неравенства следующего вида $|H_1 - H_2| / (\sqrt{k(kn + 1) / 12}) \geq q$, где H_1 и H_2 – средние ранги показателей сопоставляемых выборок 1 и 2 в общем упорядоченном ряду; n – объемы выборок ($n_1 = n_2 = n$); q – табличный коэффициент для числа k и заданной вероятности ошибки прогноза (p) [11, с. 340]. Различия считали существенными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение антигенного родства штаммов вируса НГП H9N2 и оценка напряженности поствакцинального иммунитета птиц. Сыворотки крови птиц через 28 сут после иммунизации исследовали с гомологичным и гетерологичным антигенами, сыворотки после заражения – с антигеном штамма «Челябинск-20». Полученные результаты приведены в таблице 1. Для удобного восприятия данных таблицы вакцины и антигены обозначены по их принадлежности к генетическим линиям вируса H9N2.

Из данных таблицы 1 следует:

а) титры антител, установленные в гомологичных системах при тестировании сывороток крови, полученных через 28 сут после иммунизации птиц обеими вакцинами, были практически одинаковы, о чем свидетельствует равенство логарифмических медиан. Средний титр (T) составил $9 \log_2$ (1:512). Это означает, что интенсивность гуморальной иммунной реакции птиц на каждый из испытанных антигенов была достаточно выраженной и приближенно равной;

б) при тестировании сывороток крови, указанных в пункте «а», средние ранговые эквиваленты титров (H),

установленные в гомологичных системах для обоих антигенов, достоверно ($p < 0,05$) отличались от соответствующих значений при использовании гетерологичных антигенов. Для вакцины «G1» значение H составило: $H_{\text{гомол.}} = 24,2 > H_{\text{гетерол.}} = 16,8$ и для вакцины «Y280»: $H_{\text{гомол.}} = 24,4 > H_{\text{гетерол.}} = 16,6$. Это означало, что в средних тенденциях гетерологичные реакции имели существенно меньшую активность, что, в свою очередь, указывало на определенные антигенные отличия между изучаемыми штаммами.

Для обоих антигенов разность медиан логарифмических титров в гетеро- и гомологичных реакциях составила отрицательное значение ($8 \log_{2(\text{гетерол.})} - 9 \log_{2(\text{гомол.})} = -1 \log_2$), т. е. гетерологичная реакция в обоих случаях была в два раза менее активной ($\text{antilog}_2(-1) = 1/2$). Данный показатель может быть

интерпретирован по Архетти и Хорсвалу как оценка антигенного родства (r), которая для каждого штамма составила значение $r = 1/2 \times 100 = 50\%$. Полученный показатель свидетельствует о незначительном антигенном различии изучаемых вирусов;

в) при постановке реакции с антигеном штамма «Челябинск-20» и сыворотками крови, полученными после заражения птиц указанным штаммом вируса НГП, средние ранговые эквиваленты титров, установленные для сывороток, полученных от привитых экспериментальной и серийной вакцинами птиц, достоверно ($p < 0,01$) различались: $H_{\text{гомол.}} = 15,4 < H_{\text{гетерол.}} = 25,7$. Такой эффект можно объяснить тем, что иммунитет у птиц после введения вакцины на основе антигена штамма «Челябинск-20» был достаточно напряженным по отношению к гомологичному вирусу, и проникновение

Таблица 1

Титры антител к вирусу НГП в сыворотках крови вакцинированных птиц, установленные в РТГА

Table 1

HI titres of LPAI virus antibodies in sera of vaccinated birds

Оценка титров антител (T, \log_2) через 28 сут после иммунизации и через 15 сут после заражения, установленные в РТГА при использовании гомологичных и гетерологичных антигенов									
28 сут после вакцинации						15 сут после заражения			
Вакцина шт. «Челябинск-20» (G1)		Вакцина шт. «Амурский-12» (Y280)				Вакцина шт. «Челябинск-20» (G1)		Вакцина шт. «Амурский-12» (Y280)	
Антиген G1	Антиген Y280	Антиген Y280		Антиген G1		Антиген G1		Антиген Y280	
9	25*	9	25	8	15,5	7	6	9	11,5
10	34	7	4,5	11	39,5	8	15,5	10	24
8	14	8	14	9	25,5	7	6	8	3
8	14	9	25	9	25,5	7	6	9	11,5
7	4,5	8	14	8	15,5	7	6	9	11,5
9	25	7	4,5	8	15,5	10	35	9	11,5
9	25	8	14	9	25,5	9	25,5	10	24
11	39	10	34	10	35	9	25,5	9	11,5
11	39	9	25	8	15,5	8	15,5	11	32,5
9	25	7	4,5	9	25,5	7	6	9	11,5
9	25	7	4,5	7	6	7	6	10	24
9	25	10	34	9	25,5	10	35	9	11,5
10	34	8	14	9	25,5	9	25,5	10	24
11	39	8	14	10	35	7	6	8	4
8	14	10	34	9	25,5	10	35	9	11,5
8	14	7	4,5	11	39,5	8	15,5	11	32,5
10	34	8	14	10	35	7	6	10	24
7	4,5	8	14	9	25,5	7	6	7	1
9	25	7	4,5	7	6	8	15,5	9	11,5
9	25	10	34	9	25,5	10	35	9	11,5
9**	(24,2)	8	(16,8)	9	(24,4)	8	(16,6)	9	(15,4)
$p < 0,05***$		$p < 0,05$				$p < 0,01$			

* курсивом указан ранг (порядковый номер) оценки в объединенной упорядоченной выборке титров, установленных в гомо- и гетерологичных системах;

** жирным шрифтом представлена медиана выборки ("T"), в скобках указан средний ранг выборочных оценок (H);

*** оценка существенности отличий средних тенденций значений титров в соответствующих системах (ошибка прогноза).

* in italic is the rank (serial number) of the value in the combined and ordered sample of titers determined using homologous and heterologous systems;

** in bold is median sample ("T", in brackets is mean rank of random values (H);

*** statement of significance of the difference between average trends of titres in the relative systems (prediction error).

возбудителя в организм не вызвало воздействия на иммунную систему птиц. У птиц, привитых серийной вакциной на основе антигена штамма «Амурский-12», отмечен незначительный прирост титров антител, т. е. при заражении гетерологичный вирус дополнительно воздействовал на иммунную систему птиц. Соответствующие медианы логарифмических титров (\log_2) составили значения $T_{\text{гомол.}} = 9$ и $T_{\text{гетерол.}} = 10$.

Исследование репродукции вируса НГП в организме вакцинированных птиц. В течение 14 дней после заражения выборочно было отобрано по 12 проб ротоглоточных и клоакальных проб для исследования в ОТ-ПЦР-РВ на присутствие и оценку концентрации генома вируса гриппа. Определяли пороговые циклы амплификации (Ct). Меньшая величина Ct соответствовала большей исходной концентрации генетического материала вируса в пробе. Величину $Ct \geq 37$ считали негативным показателем, т. е. геном вируса отсутствовал.

Таблица 2
Результаты обнаружения генома вируса гриппа в ОТ-ПЦР-РВ в пробах, полученных от вакцинированных птиц после заражения

Table 2
Real-time RT-PCR-detection of avian influenza virus genome in the samples collected from vaccinated birds after challenge

Оценка пороговых циклов амплификации (Ct) в виде отклонений от негативной реакции ($d_j = 37 - Ct$) соответственно времени после заражения (j , сут), виду проб (ротоглоточные и клоакальные) и типу вакцин, использованных для иммунизации птиц. По видам проб приведены ранги значений d и результаты соответствующих сравнений								
j	Ротоглоточные пробы				Клоакальные пробы			
	Вакцина шт. «Челябинск-20» (G1)		Вакцина шт. «Амурский-12» (Y280)		Вакцина шт. «Челябинск-20» (G1)		Вакцина шт. «Амурский-12» (Y280)	
1	0	4,5*	0	4,5	0	4,5	0	4,5
2	0,91	14	11,97	24	0	4,5	0	4,5
3	0,94	15	10,17	22	1,01	14	4,54	23
4	4,26	21	10,25	23	3,43	21	4,65	24
5	1,62	19	1,23	18	1,54	18	3,49	22
6	0	4,5	0,73	12	0	4,5	0,68	13
7	0,43	11	1,17	17	0,31	11	1,42	16
8	0	4,5	0	4,5	0	4,5	0,39	12
9	0	4,5	0,83	13	0	4,5	1,18	15
10	0,16	9	3,83	20	0,06	9	1,53	17
11	0	4,5	0,95	16	0	4,5	1,55	19
12	0	4,5	0,39	10	0,15	10	2,58	20
	(9,67)**		(15,33)		(9,17)		(15,83)	
	$p < 0,05^{***}$				$p < 0,025$			

* курсивом указан ранг (порядковый номер) оценки в объединенной упорядоченной выборке значений d , установленных в пробах данного вида, полученных от птиц, привитых вакцинами «G1» и «Y280»;

** в скобках указан средний ранг выборочных оценок (H);

*** оценка существенности различий (ошибка прогноза) средних тенденций значений выборок.

* in italic is the rank (serial number) of the value in the combined and ordered sample of d values determined for specific type of samples collected from birds immunized with G1 and Y280 vaccines;

** in brackets is mean rank of random values (H);

*** statement of significance of the difference (prediction error) between average trends of sample values.

Для удобства проведения анализа результаты реакции, установленные на данном временном интервале (j), выразили как отклонения от негативной оценки в виде значений $d_j = 37 - Ct$. Таким образом, величины отклонений могли находиться в диапазоне $0 \leq d \leq 36$. Полученные в ходе эксперимента результаты представлены в таблице 2.

Из данных, представленных в ней, следует:

а) после заражения вакцинированных птиц концентрация вирусного генома во всех видах изученных проб имела фазу роста, пиковую величину и фазу снижения. Присутствие генома возбудителя как в ротоглоточных, так и клоакальных пробах указывает на его распространение в организме;

б) ротоглоточные d -показатели, установленные в течение первых 4 сут после заражения, формально превосходили аналогичные величины в клоакальных пробах. Это могло свидетельствовать о несколько более активной репродукции вируса в области гортани, глотки или верхних дыхательных путей птицы. Однако статистическую достоверность такого предположения, в связи с высокой вариацией первичных оценок и небольшими объемами выборок, установить не удалось;

в) эффективность репродукции вируса контрольного заражения зависела от гомологии с вакцинным антигеном. Гомологичный иммунный фон существенно редуцировал развитие возбудителя. Средние ранговые эквиваленты значений d , установленные в ротоглоточных пробах, полученных от привитых разными вакцинами птиц, достоверно ($p < 0,05$) различались: $H_{\text{гомол.}} = 9,67 < H_{\text{гетерол.}} = 15,33$. Подобный результат ($p < 0,025$) был получен и при сопоставлении соответствующих эквивалентов d -оценок, установленных при анализе клоакальных проб: $H_{\text{гомол.}} = 9,17 < H_{\text{гетерол.}} = 15,83$. В течение 12 сут наблюдений совокупные показатели воспроизводства вируса заражения в виде сумм значений d на фоне гомологичного иммунитета в ротоглоточных и клоакальных пробах составили величины 8,32 и 6,5 соответственно, аналогичные оценки на фоне гетерологичного иммунитета имели значения 41,52 и 22,01.

Приведенные данные согласуются с ранее полученными в ФГБУ «ВНИИЗЖ» результатами экспериментов с вакцинами против высокопатогенного гриппа птиц на основе вируса H5N1 (клады 2.2 и 2.3.2) при изучении их протективных свойств в отношении вируса H5N8 (клада 2.3.4.4в). Результаты серологических исследований поствакцинального иммунитета в РТГА с использованием разных диагностических антигенов также подтвердили антигенную вариабельность вируса гриппа птицы подтипа H5. Результаты острых опытов показали, что определяющим фактором в обеспечении защитных свойств вакцин является соответствие типа гемагглютинина вакцинного антигена гемагглютинину полевого вируса и его концентрация в составе вакцины [12].

В наших экспериментах по показателям напряженности иммунитета обе вакцины значительно превысили рекомендуемое Руководством МЭБ минимальное значение $5 \log_2$ [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антигены вируса низкопатогенного гриппа птиц подтипа H9N2 штаммов A/chicken/Chelyabinsk/314-1/20 (генотип G1) и A/chicken/Amursky/03/12 (генотип Y280) в составе активного компонента инактивированной эмульсионной ассоциированной вакцины против грип-

па птиц H9N2 и ньюкаслской болезни индуцируют напряженный гуморальный иммунитет.

Указанные штаммы имеют некоторые антигенные различия, которые могут быть обнаружены с помощью реакции торможения гемагглютинации при контроле поствакцинального иммунного ответа птиц. Гомологичный иммунитет обеспечивает более выраженное подавление репродукции вируса при экспериментальном заражении.

Учитывая выявленные антигенные различия изученных штаммов, а также дальнейшую эволюцию возбудителя, в состав активного компонента инактивированных вакцин против гриппа птиц (H9) целесообразно включать оба антигена.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 1–4, 8, 13 см. REFERENCES)

5. Варкентин А. В., Ирза В. Н., Волков М. С., Демченко Л. А. Клинический случай низкопатогенного гриппа птиц на птицефабрике яичного направления. *Птица и птицепродукты*. 2020; 3: 10–13. DOI: 10.30975/2073-4999-2020-22-3-10-13.

6. Волков М. С., Варкентин А. В., Ирза В. Н. О распространении вируса низкопатогенного гриппа А/Н9N2 в мире и на территории РФ. Проблемы искоренения болезни. *Ветеринария сегодня*. 2019; 3 (30): 51–56. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-51-56.

7. Зиняков Н. Г., Осипова О. С., Акшалова П. Б., Сосипаторова В. Ю., Андриясов А. В., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Анализ генетических свойств изолята вируса гриппа А/chicken/Chelyabinsk/30/2019 H9N2, выделенного на территории Челябинской области. *Ветеринария сегодня*. 2019; 4 (31): 49–53. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-4-31-49-53.

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

10. МУ 45-16 Методические указания по выявлению РНК вируса гриппа птиц типа А методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени: утв. Россельхознадзором 06.06.2016. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2016. 13 с.

11. Холлендер М., Вулф Д. А. Непараметрические методы статистики. Пер. с англ. Д. С. Шерлинга. М.: Финансы и статистика; 1983. 518 с.

12. Ирза В. Н., Волков М. С., Варкентин А. В., Фролов С. В., Алтунин Д. А. Протективные свойства отечественных серийных и экспериментальных вакцин в отношении вирусов высокопатогенного гриппа птиц подтипов H5N1 и H5N8, изолированных в 2015–2016 гг. *Птица и птицепродукты*. 2017; 6: 12–15. Режим доступа: <http://vniipp.ru/images/statya/20176/st4.pdf>.

REFERENCES

1. Peacock T. H. P., James J., Sealy J. E., Iqbal M. A. A global perspective on H9N2 avian influenza virus. *Viruses*. 2019; 11 (7):620. DOI: 10.3390/v11070620.

2. Guo Y. J., Krauss S., Senne D. A., Mo I. P., Lo K. S., Xiong X. P. Characterization of the pathogenicity of members of the newly established H9N2 influenza virus lineages in Asia. *Virology*. 2000; 267 (2): 279–288. DOI: 10.1006/viro.1999.0115.

3. Nagy A., Mettenleiter T. C., Abdelwhab E. M. A brief summary of the epidemiology and genetic relatedness of H9N2 influenza A virus in birds and mammals in the Middle East and North Africa. *Epidemiol. Infect.* 2017; 145 (16): 3320–3333. DOI: 10.1017/S0950268817002576.

4. Dong G., Luo J., Zhang H., Wang C., Duan M., Deliberto T. J. Phylogenetic diversity and genotypical complexity of H9N2 influenza A viruses revealed by genomic sequence analysis. *PLoS One*. 2011; 6 (2):17212. DOI: 10.1371/journal.pone.0017212.

5. Varkentin A. V., Irza V. N., Volkov M. S., Demchenko L. A. Case study of low pathogenic avian influenza H9N2 on commercial egg layers farm. *Poultry and Poultry Products*. 2020; 3: 10–13. DOI: 10.30975/2073-4999-2020-22-3-10-13. (in Russian)

6. Volkov M. S., Varkentin A. V., Irza V. N. Spread of low pathogenic avian influenza A/H9N2 in the world and Russian Federation. Challenges of disease eradication. *Veterinary Science Today*. 2019; 3 (30): 51–56. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-51-56.

7. Zinyakov N. G., Osipova O. S., Akshalova P. B., Sosipatorova V. Yu., Andriyasov A. V., Andreychuk D. B., Chvala I. A. Analysis of genetic characteristics of influenza virus a/chicken/Chelyabinsk/30/2019 H9N2 isolated in Chelyabinsk Oblast. *Veterinary Science Today*. 2019; 4 (31): 49–53. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-4-31-49-53.

8. Sharshov K., Kurskaya O., Sobolev I., Leonov S., Kabilov M., Alikina T., et al. First detection of a G1-like H9N2 virus in Russia, 2018. *Korean J. Vet. Res.* 2019; 59 (1): 37–42. DOI: 10.14405/kjvr.2019.59.1.37.

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

10. MI 45-16 Methodical instructions for the detection of avian influenza A virus RNA using real-time RT-PCR: approved by the Rosselkhoznadzor on 06.06.2016. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2016. 13 p. (in Russian)

11. Hollander M., Wolfe D. A. Nonparametric Statistical Methods. 1st ed. New York: Wiley Sons Limited, Inc.; 1973. 503 p.

12. Irza V. N., Volkov M. S., Varkentin A. V., Frolov S. V., Altunin D. A. Protective properties of the domestic commercial and experimental vaccines against highly pathogenic subtype H5N1 and H5N8 avian influenza viruses isolated in 2015–2016 [Protektivnye svoystva otechestvennykh serijnykh i eksperimental'nykh vakcin v otnoshenii virusov vysokopatogennogo grippa ptic podtipov H5N1 i H5N8, izolirovannykh v 2015–2016 gg.]. *Poultry and Poultry Products*. 2017; 6: 12–15. Available at: <http://vniipp.ru/images/statya/20176/st4.pdf>. (in Russian)

13. Avian influenza (including infection with high pathogenicity avian influenza viruses). Chapter 3.3.4. In: *OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf.

Поступила 17.05.2021

Принята в печать 28.07.2021

Received on 17.05.2021

Approved for publication on 28.07.2021

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.

Щербакова Лидия Олеговна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

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

Кулаков Владимир Юрьевич, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Lidia O. Scherbakova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

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

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



Исследование биологических свойств перевиваемой суспензионной линии клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH

М. И. Доронин¹, М. Н. Гусева², Д. В. Михалишин³, А. С. Шарыпов⁴, Н. С. Мудрак⁵, Н. Е. Камалова⁶, Б. Л. Манин⁷

^{1-3,5-7} ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

⁴ ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория» (ФГБУ ЦНМВЛ), г. Москва, Россия

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

² ORCID 0000-0002-3997-3390, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

³ ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-1479-5479, e-mail: science@cnmvl.ru

⁵ ORCID 0000-0002-9788-9197, e-mail: mudrak@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0001-5671-2347, e-mail: kamalova@arriah.ru

⁷ ORCID 0000-0002-5263-1491, e-mail: manin_bl@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты изучения цитоморфологических, кариологических, культуральных характеристик перевиваемой суспензионной клеточной сублинии из почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21/SUSP/ARRIAH, предназначенной для репродукции вирусов ящура, бешенства, парагриппа-3 крупного рогатого скота, болезни Ауески, а также для изготовления диагностических ветеринарных биопрепаратов. Сублиния клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH при суспензионном культивировании проходит селекцию в направлении гипоплоидии: модальный класс соответствует 41 хромосоме (32–40% клеток); доля клеток с количеством хромосом 40–42 составляет 78–80%; доля полиплоидов – в среднем около 1%; пределы изменчивости хромосомного набора соответствуют диапазону от 36 до 54 хромосом. Клеточная сублиния ВНК-21/SUSP/ARRIAH при суспензионном культивировании с посевной концентрацией 0,6–0,8 млн кл./см³ имеет кратность прироста 6,67–11,00 при жизнеспособности клеток 96–99%. В клеточном цикле популяции новой сублинии через 48 ч преобладает G1-фаза (диплоидная-2n), на которую приходится 30,0–75,0% клеток; в фазах подготовки к митозу (S-фаза) и митотического деления (G2+M-фаза) находится от 3,0 до 20,0% всей популяции; количество крупноядерных и многоядерных клеток (> 4n) в начале и конце стадии логарифмического роста увеличивается до 2%. Клетки сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH быстро восстанавливаются после криоконсервирования с жизнеспособностью 95–99% и кратностью прироста 3,36–5,88 на первом – третьем пассажах и 6,85–10,95 – с четвертого по двенадцатый пассаж. Перевиваемая суспензионная линия клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH обеспечивает накопление вируса ящура в титрах 7,30–8,00 Ig ТЦД₅₀/см³, вируса бешенства – 7,25–8,00 Ig ККИД₅₀/см³, вируса парагриппа-3 крупного рогатого скота в титрах не менее 6,00 Ig ТЦД₅₀/см³, вируса болезни Ауески – 7,50–7,80 Ig ТЦД₅₀/см³.

Ключевые слова: клеточная линия ВНК-21/SUSP/ARRIAH, биологические свойства культуры клеток, ящур, бешенство, парагрипп-3 крупного рогатого скота, болезнь Ауески

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

Для цитирования: Доронин М. И., Гусева М. Н., Михалишин Д. В., Шарыпов А. С., Мудрак Н. С., Камалова Н. Е., Манин Б. Л. Исследование биологических свойств перевиваемой суспензионной линии клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAH. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 230–238. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-230-238.

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. Юрьево, e-mail: doronin@arriah.ru.

Studies of biological properties of continuous suspension ВНК-21/SUSP/ARRIAH cell line

М. И. Доронин¹, М. Н. Гусева², Д. В. Михалишин³, А. С. Шарыпов⁴, Н. С. Мудрак⁵, Н. Е. Камалова⁶, Б. Л. Манин⁷

^{1-3,5-7} FGBl "Federal Centre for Animal Health" (FGBl "ARRIAH"), Vladimir, Russia

⁴ FSBl "Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory" (FSBl CNMVL), Moscow, Russia

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

² ORCID 0000-0002-3997-3390, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

³ ORCID 0000-0003-1718-1955, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-1479-5479, e-mail: science@cnmvl.ru

⁵ ORCID 0000-0002-9788-9197, e-mail: mudrak@arriah.ru

⁶ ORCID 0000-0001-5671-2347, e-mail: kamalova@arriah.ru

⁷ ORCID 0000-0002-5263-1491, e-mail: manin_bl@arriah.ru

SUMMARY

The results of the studies of cytomorphological, karyological, cultural properties of continuous suspension BHK-21/SUSP/ARRIAH subline of newborn Syrian hamster kidney cells intended for foot-and-mouth disease, rabies, bovine parainfluenza-3, Aujeszky's disease virus reproduction, as well as for production of diagnostic veterinary biologicals are presented. When cultured in suspension, BHK-21/SUSP/ARRIAH cell subline undergoes selection towards hypoploidy: modal class is represented by cells with 41 chromosomes (32–40% of cells); the share of cells containing 40–42 chromosomes is 78–80%; the share of polyploids averages around 1%; the range of variation in the number of chromosomes is from 36 to 54. BHK-21/SUSP/ARRIAH cell subline cultured in suspension with cell seeding concentration of 0.6–0.8 million cells/cm³ demonstrates growth rate of 6.67–11.00 and 96–99% cell viability. After 48 hours, G1-phase (diploid-2n) cells prevail in the cell population of the new subline (30.0–75.0% of cells); cells that undergo preparation for mitosis (S-phase) and mitosis (G2+M-phase) account for 3.0 to 20.0% of the entire population; the number of meganucleated and multinucleated cells (> 4n) at the beginning and at the end of the logarithmic phase increases to 2%. BHK-21/SUSP/ARRIAH cells recover rapidly after cryopreservation and demonstrate 95–99% viability and growth rate of 3.36–5.88 at passages 1 to 3 and 6.85–10.95 at passages 4 to 12. Continuous suspension BHK-21/SUSP/ARRIAH cell line ensures virus accumulation at the following titres: FMD virus – 7.30–8.00 lg TCID₅₀/cm³, rabies virus – 7.25–8.00 lg CCID₅₀/cm³, bovine parainfluenza-3 virus – at least 6.00 lg TCID₅₀/cm³, Aujeszky's disease virus – 7.50–7.80 lg TCID₅₀/cm³.

Keywords: BHK-21/SUSP/ARRIAH cell line, biological properties of cell culture, foot-and-mouth disease, rabies, bovine parainfluenza-3, Aujeszky's disease

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

For citation: Doronin M. I., Guseva M. N., Mikhailishin D. V., Sharypov A. S., Mudrak N. S., Kamalova N. Ye., Manin B. L. Studies of biological properties of continuous suspension BHK-21/SUSP/ARRIAH cell line. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 230–238. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-230-238.

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

Одной из наиболее часто и широко применяемых по всему миру культур клеток является перевиваемая клеточная линия почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21 клон 13, которая была получена в 1961 г. в Англии М. Stoker and J. Macpherson [1]. Результаты проведенной работы опубликованы авторами в таких научных изданиях, как *Virology* (1962) и *Journal of the National Cancer Institute* (1963). В дальнейшем были получены следующие аналоги данной культуры клеток:

– ВНК-21/13 – сублиния перевиваемых клеток почки новорожденного сирийского хомячка, полученная в Институте полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР (г. Москва) [2];

– ВНК-21/2-17b – перевиваемый монослойно-сuspensionный клон клеток почки новорожденного сирийского хомячка, полученный во Всероссийском научно-исследовательском ящурном институте (ВНИИЯ, г. Владимир) [2, 3];

– ВНК-21/13-02 – перевиваемая монослойно-сuspensionная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вируса ящура и вируса бешенства, получена в ФГУП «Щелковский биокомбинат» [4];

– ВНК-21/13-13 – перевиваемая монослойно-сuspensionная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вируса ящура типов А, О, С, Азия-1, САТ-1, САТ-2, САТ-3 и вируса бешенства штамма «Щелково-51», используемых для изготовления противовирусных вакцин против ящура и бешенства, получена в ФГУП «Щелковский биокомбинат» [5, 6].

Используемые в биотехнологии перевиваемые клеточные линии отличаются по морфологии, кариологии, ростовым свойствам, особенностям культивирования, способам поддержания и чувствительности к вирусам [7, 8]. Представленные сублинии клеток ВНК-21 характеризуются довольно высокими показателями интенсивности прироста и позволяют проводить репродукцию вирусов ящура и бешенства. При этом для промышленного получения культуральных вакцинных препаратов против ящура, бешенства, а также парагриппа-3 крупного рогатого скота (КРС) и болезни Ауески требуется суспензионная сублиния клеток ВНК-21, обеспечивающая накопление вирусов с высокими значениями титров инфекционной активности. Клеточные линии ВНК-21/13, ВНК-21/2-17b, ВНК-21/13-02 и ВНК-21/13-13 позволяют получать вирус ящура с титром инфекционной активности не более 7,00 lg TCID₅₀/cm³, вирус бешенства – 7,00 lg ККИД₅₀/cm³ [4, 5, 9, 10]. Сведения о результатах культивирования вирусов парагриппа-3 КРС и болезни Ауески в тексте патентов на указанные сублинии клеток ВНК-21 не представлены.

Для удовлетворения нужд производственного процесса по репродукции вирусов ящура, бешенства, парагриппа-3 КРС и болезни Ауески с высокими титрами инфекционной активности путем селекции культуры клеток ВНК-21 клон 13 во ВНИИЯ была получена клеточная сублиния ВНК-21/2-17b, из которой через 30 лет путем перманентного культивирования в суспензии выведена новая сублиния ВНК-21/SUSP/ARRIAH. Клеточная сублиния ВНК-21/SUSP/ARRIAH задепонирована в «Специализированной коллекции культур клеток

ЦКП КККП» Института цитологии РАН под номером № РККК(П) 797 Д [11].

Цель данной работы – исследование биологических свойств перевиваемой суспензионной клеточной сублинии из почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21/SUSP/ARRIAH и оценка возможности ее применения для репродукции вирусов животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Суспензионное культивирование клеток проводили отъемно-доливным способом в стеклянных и металлических реакторах объемом от 40 до 2000 л отдельными циклами по 10–12 пассажей. Для культивирования использовали культуральную ростовую среду, содержащую 5% сыворотки крови КРС, гидролизат белков крови с концентрацией 15–20 см³/дм³, перевар по Хоттингеру в объеме 2–10 см³/дм³, 8 протеиногенных аминокислот, витамины и минеральные соли. Посевная концентрация клеток составляла 0,6–0,8 млн кл./см³. Каждые 12 ч проводили оценку уровня pH, концентрации живых и мертвых клеток, степени стерильности суспензии. Во время репродукции клеток происходило образование лактата, который способствовал снижению значений водородного показателя. Поэтому в клеточную суспензию добавляли 7,5%-й раствор питьевой соды и/или регулировали уровень pH с помощью барботирования.

Морфологический анализ клеток. Исследование клеток под микроскопом проводили при различной степени увеличения в фазовом контрасте. Для оценки размера ядра относительно цитоплазмы осуществляли обработку суспензионных клеток акридиновым оранжевым. В результате экспозиции с красителем ядра приобретали яркое зеленовато-желтое окрашивание и визуализировались на оранжевом фоне цитоплазмы. Жизнеспособность определялась окрашиванием с помощью трипанового синего [12].

Кариологический анализ клеток проводили с применением метода P. S. Moorhead et al. [13], позволяющего выявлять метафазные хромосомы. Клетки, отобранные из реакторов в логарифмической фазе роста, помещали на твердый субстрат в ростовой питательной среде с 0,001% колхицина и инкубировали в течение 3–4 ч. Окружившиеся метафазные клетки собирали встряхи-

ванием и затем концентрировали центрифугированием суспензии. Далее процесс осуществлялся в центрифужных пробирках в следующей последовательности: 10 мин – гипотония при температуре 36 °С; 3 обработки фиксирующим раствором по 10 мин с центрифугированием при температуре 22–25 °С. Полученную суспензию наносили на охлажденные стекла пастеровской пипеткой и окрашивали раствором Гимзы в течение 10–15 мин. После получения препарата производили фотографирование 100 метафазных пластинок, подсчет числа хромосом в них под иммерсией с помощью микроскопа с увеличением $\times 90$ и построение кариограммы [14].

Цитометрический анализ сублинии клеток. Для сравнительного анализа фаз жизненного цикла клеток проводили цитометрические исследования [15, 16] ($n = 22$) на проточном цитометре Accuri C6 с помощью набора для определения ДНК клеток «C6 Flow Cytometer Fluid Kit» (BD Accuri™, США) согласно рекомендациям производителя. Для клеток сублиний через 48 ч после пересева получали ДНК-гистограммы.

Элюаты ДНК анализировали в цитометре, выбирая программу «Анализ параметров клеточного цикла и содержания ДНК в живых клетках». Процесс длился в течение 2 ч с регистрацией флуоресцентного сигнала. Оценивали распределение клеток по G1/G0-, S- и G2/M-фазам клеточного цикла путем определения относительного содержания ДНК в клетках при помощи ДНК-связывающих флуоресцентных красителей.

Криоконсервацию суспензии клеток проводили в ампулах объемом 100 см³ в криосреде (ростовая среда с добавлением 7–10% диметилсульфоксида и 20% фетальной сыворотки телят). До температуры минус 70 °С суспензию клеток охлаждали со скоростью 2 °С/мин, до минус 150 °С – 10 °С/мин, затем ампулы помещали в жидкий азот при минус 196 °С. Размораживание клеточной суспензии осуществляли при температуре 39–42 °С в течение 2 мин.

Для размораживания клеток использовали метод непосредственной посадки, который включает следующие этапы работы: быстрая разморозка суспензии при температуре 37 °С на водяной бане; смешение 1,0 см³ клеток с 20 см³ культуральной ростовой среды, содержащей 10% сыворотки крови телят (посевная концентрация клеток 0,5–0,7 млн кл./см³); инкубирование клеток в течение 12 ч с последующей сменой среды для удаления криоконсерванта.

Вирусы. В работе использовали вирус ящура штаммов А/Турция/2006, О/Саудовская Аравия/2008, Азия-1/Таджикистан/2011, вирус бешенства штаммов «ВНИИЗЖ» и «РВ-97», вирус болезни Ауески штаммов «ВК» и «К», вирус парагриппа-3 КРС штамма «ВГНКИ-4».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическое исследование клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH в сравнении с ВНК-21/2-17b. Исследовали морфологическое состояние клеток сублинии ВНК-21/2-17b на момент патентования в 1986 г. (рис. 1).

Морфология клеток была определена как аморфная, иными словами, при посеве на субстрат в первом пассаже клетки не имели постоянной формы, активно перемещались и только во время деления приобретали сферическую форму. На втором пассаже клетки данной сублинии полноценно адгезировались и при-

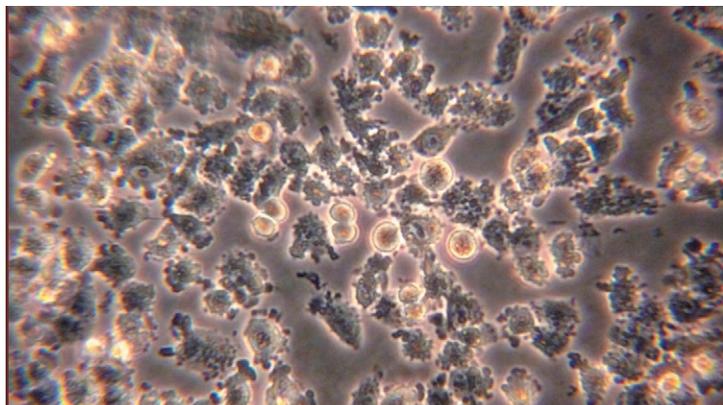


Рис. 1. Морфология клеток сублинии ВНК-21/2-17b (1-й пассаж, на момент патентования в 1986 г.; ув. $\times 80$)

Fig. 1. Cell morphology of ВНК-21/2-17b subline (passage 1, at the time of patenting in 1986; magnification 80 \times)

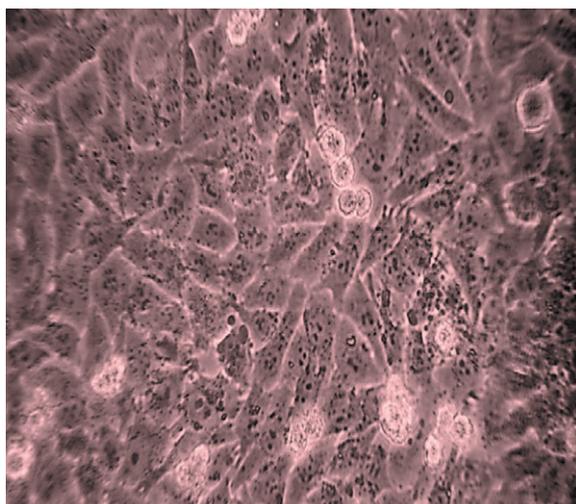


Рис. 2. Морфология клеток сублинии ВНК-21/2-17b (2-й пассив; ув. $\times 80$)

Fig. 2. Cell morphology of BHK-21/2-17b subline (passage 2; magnification 80 \times)

нимали эпителиоподобную форму (рис. 2). После полного покрытия субстрата часть клеток переходила в суспензионное состояние и характеризовалась высокими показателями пролиферативной активности (кратность прироста составляла не менее 4–6).

Морфология суспензионных клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH представлена на рисунке 3. При проведении морфологических исследований установили, что внешне клетки практически не менялись по сравнению с сублинией ВНК-21/2-17b. В популяции преобладала доля мелких клеток размером 8–10 мкм (до 90%). При этом в процессе пассирования на горизонтальной поверхности клетки слабо адгезировались (исключение составляли полиплоиды) и интенсивно перемещались. В результате многократных митотических делений в культуральном флаконе наблюдалось значительное увеличение концентрации клеток в суспензионном состоянии. Таким образом, созданная клеточная линия ВНК-21/SUSP/ARRIAH представляет собой исключительно суспензионную сублинию клеток.

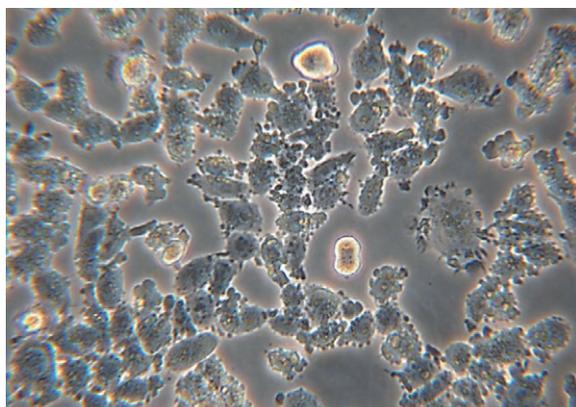


Рис. 3. Морфология клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH (ув. $\times 80$)

Fig. 3. Cell morphology of BHK-21/SUSP/ARRIAH subline (magnification 80 \times)

Для оценки размера ядра относительно цитоплазмы отбирали 50 образцов суспензии клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH после их выращивания в стеклянных и металлических реакторах и проводили обработку акридиновым оранжевым. В результате экспозиции с красителем ядра приобретали яркое зеленовато-желтое окрашивание и были визуализированы на оранжевом фоне цитоплазмы (рис. 4).

По итогам измерений диаметров ядер и клеток пришли к выводу, что для новой сублинии отмечается увеличение размера ядра относительно цитоплазмы и размера клетки. В большинстве случаев размер ядра составлял 60–80% от объема клетки.

Кариологическое исследование клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH в сравнении с ВНК-21/2-17b. Для проведения кариологического анализа готовили хромосомные препараты по методу P. S. Moorhead et al. [13], затем производили микроскопирование и микрофотографирование 100 метафазных пластинок, подсчет числа хромосом и составляли кариограмму.

На рисунке 5 показан популяционный состав культуры клеток ВНК-21/2-17b на момент патентования в 1986 г. Многократные опыты указывали на стабильное преобладание популяций с 42 хромосомами (28–40% от всей популяции). Наличие 36 хромосом отмечено у 1% популяций, 37 хромосом – у 2%, 38 хромосом – у 9%, 39 хромосом – у 3%, 40 хромосом – у 8%, 41 хромосомы – у 27%, 42 хромосом – у 40%, 43 хромосом – у 7%, 44 хромосом – у 2%, полиплоиды составили 1%.

В течение трех десятилетий в производстве многослойное выращивание данной культуры клеток не применялось. В результате суспензионного культивирования в ростовой среде в течение около 100 последовательных пассажей клетки ВНК-21/2-17b трансформировались в новую клеточную сублинию ВНК-21/SUSP/ARRIAH. Популяции клеток данной линии, выращенных в культиваторах объемом 40, 250 и 2000 дм³, подвергали кариологическому анализу. Для исследования использовали по 50 образцов клеточных суспензий, полученных через 48 ч после посева. Установили, что в однородных условиях культивирования в клетках произошли некоторые кариологические изменения. Модальный класс новой сублинии стал равен 41 хромосоме и соответствует 32–40% популяции. Доля

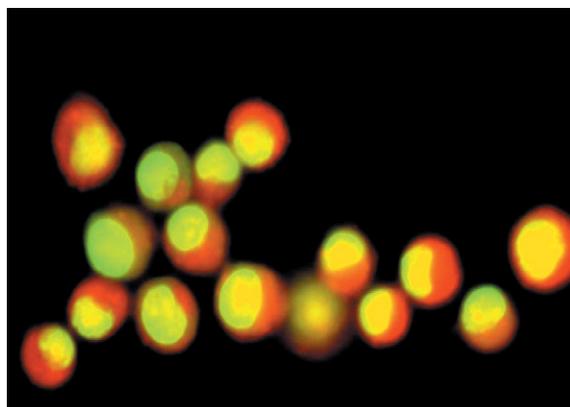


Рис. 4. Визуализация ядер суспензионных клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH при окрашивании акридиновым оранжевым

Fig. 4. Visualization of nuclei of suspension BHK-21/SUSP/ARRIAH subline cells stained with acridine orange

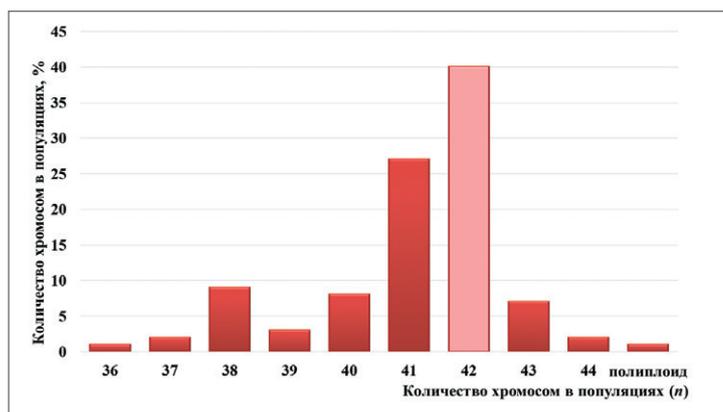


Рис. 5. Кариограмма популяции клеток сублинии ВНК-21/2-17b на момент патентования (1986 г.)

Fig. 5. Karyogram of BHK-21/2-17b subline cell population at the time of patenting (1986)

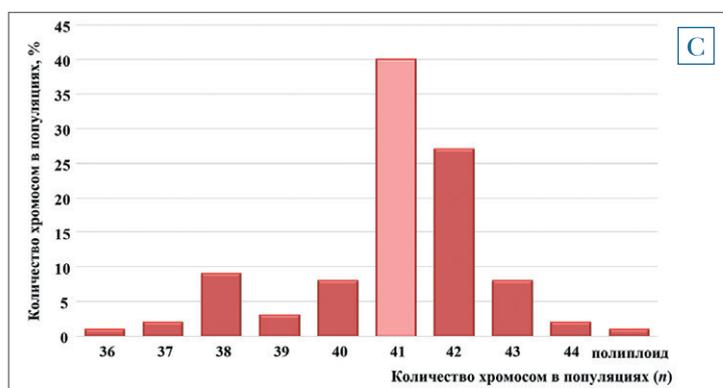
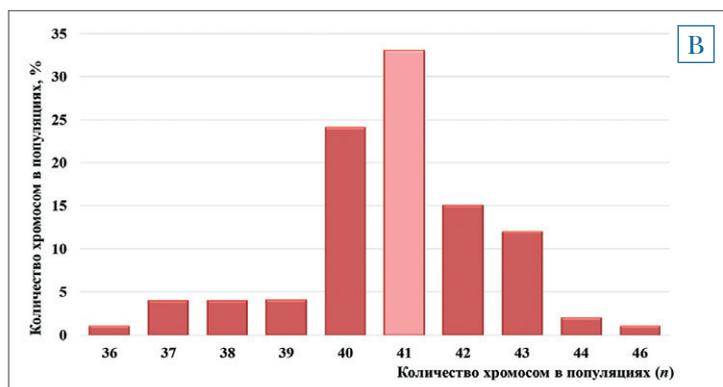
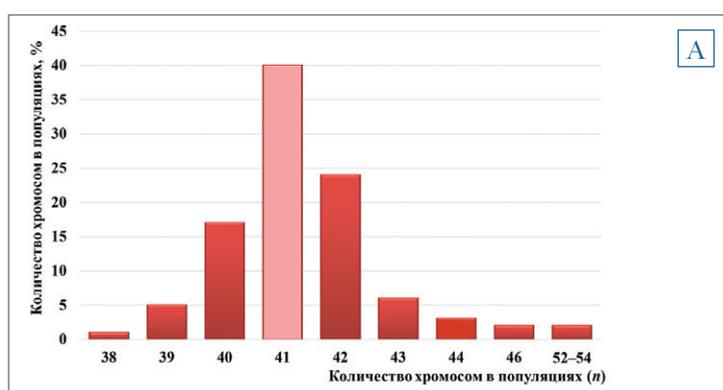


Рис. 6. Кариограмма клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH, выращенных в культиваторах объемом 50 (А), 250 (В), 2000 дм³ (С)

Fig. 6. Karyogram of BHK-21/SUSP/ARRIAH subline cells grown in 50 (A), 250 (B), 2000 dm³ (C) fermenters

клеток с количеством хромосом 40–42 составляет 78–80%, полиплоидов – в среднем около 1%. Пределы изменчивости хромосомного набора для клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH соответствуют диапазону от 36 до 54 хромосом. Наличие 36 хромосом отмечено у 0–1% популяций, 37 хромосом – у 0–4%, 38 хромосом – у 1–9%, 39 хромосом – у 3–5%, 40 хромосом – у 8–24%, 41 хромосомы – у 33–40%, 42 хромосом – у 15–27%, 43 хромосом – у 6–12%, 44 хромосом – у 2–3%, 46 хромосом – у 0–2% и 52–54 хромосом – у 0–2% (рис. 6).

Цитометрическое исследование клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH в сравнении с ВНК-21/2-17b. При сравнительном анализе фаз жизненного цикла клеток двух сублиний через 48 ч после пересева клеточной суспензии были получены ДНК-гистограммы, представленные на рисунке 7 и в таблице 1.

На основании полученных данных установлено, что в состоянии апоптоза и дебриса было 51,0–60,0% клеток линии ВНК-21/2-17b, что на 5,0–31,0% больше, чем клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH (20,0–55,0%). В G1-фазе (пресинтетический период) находилось 30,0–75,0% клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH и 28,0–70,3% клеток сублинии ВНК-21/2-17b. Во время данной фазы клетки подготавливаются к удвоению хромосом, отмечается интенсивный синтез полипептидов, увеличивается количество митохондрий и рибосом. Доля клеток новой сублинии, находящихся в данной стадии, была на 2,0–4,7% больше по сравнению с линией ВНК-21/2-17b. Вероятно, часть клеток сублинии ВНК-21/2-17b между митотической фазой М и началом G1-фазы переходит в стадию апоптоза, что, соответственно, в дальнейшем сказывается на кратности прироста всей клеточной популяции.

В S-фазе (синтетический период), когда наблюдается репликация клеточной ДНК во многих репликациях и начинается удвоение центриолей в клеточном центре, у сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH находится 2,0–33,0% клеток, а у прототипной линии – 1,5–30,0%, что на 0,5–3,0% выше по сравнению с клетками новой сублинии.

В G2-фазе (постсинтетический период), во время которой накапливаются энергия, белки для митотического деления клетки и достигается тетраплоидный набор ДНК, а также в М-фазе (митоз) через 48 ч у сублинии ВНК-21/2-17b находится 2,6–18% клеток, у ВНК-21/SUSP/ARRIAH – 3,0–20% клеток, что на 0,4–2,0% выше и свидетельствует о большем потенциале клеток новой сублинии для продолжения деления.

Таким образом, в результате суспензионного культивирования в ростовой среде модифицированного состава в течение 100 последовательных пассажей клетки перевиваемой линии ВНК-21/2-17b трансформировались в новую сублинию ВНК-21/SUSP/ARRIAH, у которой в клеточном цикле популяции через 48 ч преобладает G1-фаза с 30,0–75,0% клеток. В фазах подготовки к митозу и митотического деления (G2+М-фаза) находится от 3,0 до 20,0% всей популяции. Количество крупноядерных и многоядерных клеток (> 4n) в начале и конце стадии логарифмического роста увеличивается до 2%. Иными словами, вероятно, произошло селекция основной популяции, что проявилось в снижении количества клеток, находящихся в стадии апоптоза и дебриса на 5,0–31,0%, и в увеличении числа клеток, участвующих в G1-, S- и G2+М-фазах на 2,0–4,7; 0,5–3,0 и 0,4–2,0% соответственно, обеспечивающих клеточный рост.

Оценка ростовых свойств клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH в сравнении с прототипными сублиниями.

Клетки сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH, полученные в результате длительного суспензионного культивирования (100 последовательных пассажей), исследовали на предмет ростовых свойств в сравнении с клетками прототипных сублиний ВНК-21/13, ВНК-21/2-17b, ВНК-21/13-02 и ВНК-21/13-13. Результаты анализа представлены в таблице 2, из данных которой видно, что при суспензионном культивировании клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH отъемно-доливым способом при посевной концентрации 0,5–0,6 млн кл./см³ через 48 ч культивирования в оптимальном режиме концентрация составляет 4,0–5,5 млн кл./см³. Таким образом, кратность прироста равна 6,67–11,00 при жизнеспособности клеток 96–99%. Суспензионные клетки сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH при выращивании в культуральных флаконах в статичных условиях характеризовались низкими показателями адгезии, имели аморфную форму со множеством цитоплазматических выростов, динамика которых составляла несколько минут.

Оценка жизнеспособности клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH, рекультивированных после криоконсервирования. В суспензии после криоконсервации определяли количество живых клеток (n = 10). По результатам исследования выявили, что жизнеспособность клеток после криоконсервирования на первом пассаже составляла 85–90%, со второго пассажа увеличивалась до 96–99%.

После реконсервации клеток и выращивания непосредственно в суспензии в течение первого пассажа происходила задержка пролиферации на сутки. На рисунке 8 показана кратность прироста клеток сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH в течение 12 последовательных пассажей после криоконсервации. Интенсивность пролиферации на первом – третьем пассажах варьировала от 3,36 ± 0,21 до 5,88 ± 0,15 (p < 0,005). Начиная с 4-го пассажа значения кратности прироста составляли от 6,85 ± 0,18 до 10,95 ± 0,31 (p < 0,005). Считается,

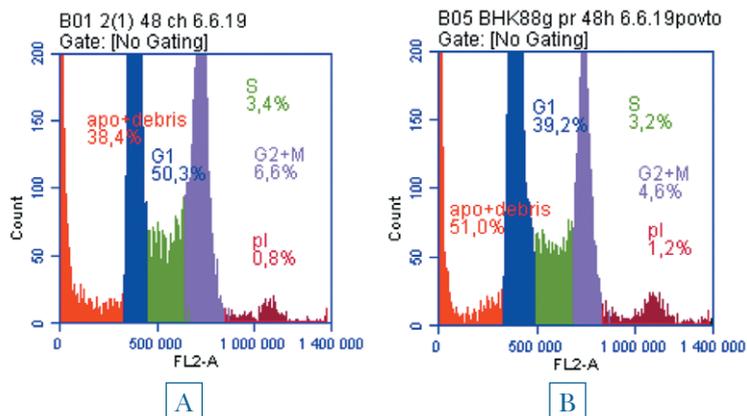


Рис. 7. ДНК-гистограмма клеток сублиний ВНК-21/SUSP/ARRIAH (A) и ВНК-21/2-17b (B)

Fig. 7. DNA histogram of BHK-21/SUSP/ARRIAH (A) and BHK-21/2-17b (B) subline cells

Таблица 1
Сравнительный анализ жизненных циклов клеток сублиний ВНК-21/SUSP/ARRIAH и ВНК-21/2-17b по данным цитометрического исследования

Table 1
Comparative analysis of life cycles of BHK-21/SUSP/ARRIAH and BHK-21/2-17b subline cells based on cytometry data

Стадия клеточного цикла	Доля клеток, находящихся в стадии клеточного цикла, %		Различия в долях клеток, %
	ВНК-21/SUSP/ARRIAH	ВНК-21/2-17b	
Стадия апоптоза	20,0–55,0	51,0–60,0	31,0–5,0
G1-фаза	30,0–75,0	28,0–70,3	2,0–4,7
S-фаза	2,0–33,0	1,5–30,0	0,5–3,0
G2+M-фаза	3,0–20,0	2,6–18,0	0,4–2,0

Таблица 2
Оценка ростовых свойств клеток суспензионной сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAH в сравнении с данными для прототипных клеточных сублиний

Table 2
Evaluation of growth properties of suspension BHK-21/SUSP/ARRIAH subline cells in comparison with prototype cell sublines

Сублиния клеток	Монослойное культивирование				Суспензионное культивирование		
	коэффициент посева	срок формирования монослоя, сут	время сохранения монослоя, сут	количество клеток с культурального флакона, млн*	кратность прироста	концентрация клеток, млн/см ³	количество жизнеспособных клеток, %
ВНК-21/13	1:3	2–3	3	40–45	поддерживается в суспензионном состоянии**		
ВНК-21/2-17b	1:3	2–3	5	40–45	6,00–7,00	2,30–2,80	95–99
ВНК-21/13-02	1:2–1:3	2–3	5	40–45	6,00–8,00	до 4,00	95–99
ВНК-21/13-13	1:2–1:3	2–3	5–6	40–45	6,00–8,00	2,40–4,00	95–98
ВНК/SUSP/ARRIAH	низкие адгезивные свойства, клетки аморфной формы со множеством цитоплазматических выростов				6,67–11,00	4,00–5,50	96–99

* используется клинкий матрас с площадью рабочей поверхности 375 см² (a cultivation flask with a growth surface area of 375 cm² is used);

** подробные сведения по суспензионному культивированию [6, 10] не отражены (detailed information on suspension cultivation [6, 10] is not reflected).



Рис. 8. Изменение кратности прироста клеток сублинии BHK-21/SUSP/ARRIAH, рекультивированных после криоконсервации (указаны средние значения кратности прироста; $n = 30$, $p < 0,005$)

Fig. 8. Growth rate variations of BHK-21/SUSP/ARRIAH subline cells recultivated after cryopreservation (mean growth rate values are provided; $n = 30$, $p < 0.005$)

что для клеток линий BHK-21 нормальное значение кратности прироста соответствует 4 и выше [9, 17]. Иными словами, со 2-го пассажа клеточная линия BHK-21/SUSP/ARRIAH достигает требуемой кратности прироста клеток. Максимальное значение пролиферативной активности клеток исследуемой линии отмечается на 9-м пассаже. Следует отметить, что на 12-м пассаже кратность прироста составляла 7,02, что выше нижней нормы на 3,02 единицы. Таким образом, клеточная сублиния BHK-21/SUSP/ARRIAH быстро рекультивируется после криоконсервирования и отличается высокими показателями интенсивности пролиферации (до $10,95 \pm 0,31$) с жизнеспособностью клеток 95–99%.

Репродукция вирусов ящура, бешенства, парагриппа-3 КРС и болезни Ауески в клетках сублинии BHK-21/SUSP/ARRIAH в сравнении с прототипными сублиниями (по литературным данным). В клетках перевиваемой суспензионной сублинии BHK-21/SUSP/ARRIAH провели репродукцию вируса ящура штаммов А/Турция/2006 ($n = 100$), О/Саудовская Аравия/08 ($n = 100$), Азия-1/Таджикистан/2011 ($n = 80$), вируса бешенства штаммов «ВНИИЗЖ» ($n = 40$) и «РВ-97» ($n = 40$),

вируса болезни Ауески штаммов «ВК» ($n = 40$) и «К» ($n = 40$), вируса парагриппа-3 КРС штамма «ВГНКИ-4» ($n = 50$) с целью получения вируссодержащего сырья для изготовления противовирусных вакцин (табл. 3).

Сравнительный анализ полученных результатов с данными литературы для прототипных клеточных сублиний [4, 5] показал, что вирус ящура в клетках сублинии BHK-21/SUSP/ARRIAH вызывал 95–99%-е цитопатическое действие (ЦПД) с титром инфекционной активности $7,30 \pm 0,13 - 8,00 \pm 0,21 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ ($n = 280$), а в культурах клеток BHK-21/2-17b, BHK-21/13-02 и BHK-21/13-13 – с титрами до $7,00 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

При репродукции вируса бешенства в полученной сублинии клеток титр инфекционности составил от $7,25 \pm 0,20$ до $8,00 \pm 0,13 \text{ Ig ККИД}_{50}/\text{см}^3$ ($n = 80$) с проявлением ЦПД 95–99%, а в культурах клеток BHK-21/13-02 – $6,50 \text{ Ig ККИД}_{50}/\text{см}^3$, в BHK-21/2-17b и BHK-21/13-13 – до $7,00 \text{ Ig ККИД}_{50}/\text{см}^3$. Вирус болезни Ауески при культивировании в культуре BHK-21/SUSP/ARRIAH вызывал ЦПД у 95–97% клеток и накапливался в пределах $7,50 \pm 0,19 - 7,80 \pm 0,15 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ ($n = 80$), а вирус парагриппа-3 КРС обеспечивал ЦПД клеток на 95–98% с титром инфекционной активности до $6,00 \pm 0,15 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ ($n = 50$).

Таким образом, клетки сублинии BHK-21/SUSP/ARRIAH, полученной для производства противовирусных вакцин, а также для изготовления диагностических ветеринарных биопрепаратов, позволяют осуществлять репродукцию вируса ящура с титром на $1,00 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ выше (до $8,00 \pm 0,21 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$) по сравнению с аналогами (не более $7,00 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$). Предложенная сублиния обеспечивает накопление вируса бешенства с титром на $0,25 - 1,00 \text{ Ig ККИД}_{50}/\text{см}^3$ (до $8,00 \pm 0,13 \text{ Ig ККИД}_{50}/\text{см}^3$) выше по сравнению с прототипными линиями (не более $7,00 \text{ Ig ККИД}_{50}/\text{см}^3$), а также получать вирусы парагриппа-3 КРС и болезни Ауески в количествах $6,00 \pm 0,15$ и до $7,80 \pm 0,15 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованы биологические свойства перевиваемой суспензионной клеточной сублинии из почки новорожденного сирийского хомячка BHK-21/SUSP/

Таблица 3

Культивирование вирусов ящура, бешенства, парагриппа-3 КРС и болезни Ауески в суспензионной сублинии клеток BHK-21/SUSP/ARRIAH ($p < 0,005$)

Table 3

Cultivation of FMD, rabies, bovine parainfluenza-3 and Aujeszky's disease viruses in suspension BHK-21/SUSP/ARRIAH cell subline ($p < 0.005$)

Культивируемые вирусы	Цитопатическое действие, %	Титр инфекционной активности вируса	Количество опытов
вирус ящура штамм А/Турция/06	95–98	$7,30 \pm 0,13 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$	100
вирус ящура штамм О/Саудовская Аравия/08	95–98	$7,80 \pm 0,23 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$	100
вирус ящура штамм Азия-1/Таджикистан/11	95–99	$8,00 \pm 0,21 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$	80
вирус бешенства штамм «ВНИИЗЖ»	95–99	$8,00 \pm 0,13 \text{ Ig ККИД}_{50}/\text{см}^3$	40
вирус бешенства штамм «РВ-97»	95–99	$7,25 \pm 0,20 \text{ Ig ККИД}_{50}/\text{см}^3$	40
вирус болезни Ауески штамм «ВК»	95–97	$7,80 \pm 0,15 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$	40
вирус болезни Ауески штамм «К»	95–97	$7,50 \pm 0,19 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$	40
вирус парагриппа-3 КРС штамм «ВГНКИ-4»	95–98	$6,00 \pm 0,15 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$	50

ARRIAN и проведена оценка возможности ее применения для репродукции вирусов ящура, бешенства, парагриппа-3 КРС и болезни Ауески.

Определено, что сублиния клеток ВНК-21/SUSP/ARRIAN при суспензионном культивировании проходит селекцию в направлении гипоплоидии: модалный класс соответствует 41 хромосоме (32–40% клеток); доля клеток с количеством хромосом 40–42 составляет 78–80%; доля полиплоидов – в среднем около 1%; пределы изменчивости хромосомного набора соответствуют диапазону от 36 до 54 хромосом.

Выявлено, что клеточная сублиния ВНК-21/SUSP/ARRIAN при суспензионном культивировании отъемно-долживным способом имеет экспоненциальный характер роста клеток со снижением интенсивности пролиферации через 48 ч и кратностью прироста 6,67–11,00 при жизнеспособности клеток 96–99%.

Установлено, что клетки суспензионной сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAN при выращивании в статичных условиях проявляют низкие адгезивные свойства, имеют аморфную форму со множеством цитоплазматических микровыростов и в процессе митотического деления накапливаются в культуральной среде в суспензии.

Определено, что в клеточном цикле популяции сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAN через 48 ч преобладает G1-фаза, на которую приходится 30,0–75,0% клеток; в фазах подготовки к митозу и митотического деления (G2+M-фаза) находится от 3,0 до 20,0% всей популяции; количество крупноядерных и многоядерных клеток (> 4n) в начале и конце стадии логарифмического роста увеличивается до 2%.

Обнаружено, что клетки сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAN быстро восстанавливаются после криоконсервирования с жизнеспособностью 95–99% и кратностью прироста 3,36–5,88 на 1–3-м пассажах и 6,85–10,95 – с 4-го по 12-й пассаж.

Выявлено, что клетки суспензионной сублинии ВНК-21/SUSP/ARRIAN позволяют осуществлять репродукцию следующих вирусов: ящура с титрами 7,30–8,00 Ig ТЦД₅₀/см³; бешенства с титрами 7,25–8,00 Ig ККИД₅₀/см³; парагриппа-3 КРС с титром не менее 6,00 Ig ТЦД₅₀/см³; болезни Ауески с титрами 7,50–7,80 Ig ТЦД₅₀/см³.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

(п. п. 1, 13, 16, 17 см. REFERENCES)

- Манин Б. Л., Михалишин В. В., Корпусова Т. И., Стегний Б. Т., Лаврик А. А. Параметры биологической толерантности производственной клеточной культуры ВНК-21. *Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб.* Харків; 2002; 80: 404–408.
- Сокова В. В., Алиева Л. А., Бондаренко А. Ф., Худяков Г. А. Клеточная линия почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21/2-17b. Авторское свидетельство № 240289 СССР. ВНИИЯИ; 1986.
- Елисеев А. К., Мельник Н. В., Зенов Н. И., Литенкова И. Ю., Богач В. Н., Иванов В. С. и др. ВНК-21/13-02-перевиваемая монослойно-суспензионная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вируса ящура и вируса бешенства. Патент № 2614074 Российская Федерация, МПК C12N 5/07 (2010.01). ФКП «Щелковский биокombинат». № 2005116301. Заявл. 31.05.2005. Оpubл. 22.03.2017. Бюл. № 9.
- Елисеев А. К., Зенов Н. И., Красуткин С. Н., Мельник Н. В., Хайкина Л. С., Литенкова И. Ю. и др. ВНК-21/13-13-перевиваемая монослойно-суспензионная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вируса ящура и вируса бешенства. Патент № 2553552 Российская Федерация, МПК C12N 5/071 (2010.01). ФКП «Щелковский биокombинат». № 2014131866/10. Заявл. 01.08.2014. Оpubл. 20.06.2015. Бюл. № 17.
- Российская коллекция клеточных культур (РККК): каталог. Под ред. Г. П. Пинаева, Г. Г. Полянской. СПб.; 2004. 315 с.

- Бейли Дж., Оллис Д. Основы биохимической инженерии. Пер. с англ. в 2-х частях. Ч. 1. М.: Мир; 1989. 692 с.
- Методы культивирования клеток: сборник научных трудов АН СССР. Отв. ред. Г. П. Пинаев. Л.: Наука; 1988. 319 с.
- Каталог Российской коллекции клеточных культур. Отв. ред. Г. П. Пинаев, Г. Г. Полянская. Омск: ОмГПУ; 1999. 429 с.
- Юрков С. Г., Зуев В. В., Сидоров С. И., Кушнир С. Д., Смылова Н. Ю., Неверовская Н. С. и др. Каталог коллекции клеточных культур ВНИИВВиМ. Покров; 2000; 60–62. eLIBRARY ID: 21632428.
- Лозовой Д. А., Гусева М. Н., Михалишин Д. В., Доронин М. И., Манин Б. Л., Шишкова А. А. и др. ВНК-21/SUSP/ARRIAN – перевиваемая суспензионная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вирусов ящура, бешенства, парагриппа-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. Оpubл. 02.06.2020. Бюл. № 16.
- Полянская Г. Г. Закономерности кариотипической изменчивости в клеточных культурах при длительном культивировании в разных линиях: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. СПб.; 2000. 38 с.
- Мамаева С. Е. Хромосомный анализ культивируемых клеток. *Методы культивирования клеток*. Л.: Наука; 1987; 78–98.
- Худрявцев И. В., Хайдуков С. В., Зурочка А. В., Черешнев В. А. Проточная цитометрия в экспериментальной биологии. Екатеринбург: УрО РАН; 2012. 192 с.

REFERENCES

- Stoker M., Macpherson I. Syrian hamster fibroblast cell line BHK-21 and its Derivatives. *Nature*. 1964; 203: 1355–1357. DOI: 10.1038/2031355A0.
- Manin B. L., Mikhailishin V. V., Korpusova T. I., Stegnyy B. T., Lavrik A. A. Biological tolerance parameters of production BHK-21 cell culture [Parametry biologicheskoy tolerantnosti proizvodstvennoy kletochnoy kul'tury BHK-21]. *Veterinary Medicine: Inter-Departmental Subject Scientific Collection*. Kharkiv; 2002; 80: 404–408. (in Russian)
- Sokova V. V., Aliyeva L. A., Bondarenko A. F., Khudyakov G. A. BHK-21/2-17b line of newborn Syrian hamster kidney cells [Kletochnaya liniya pochki novorozhdennogo siriyskogo homyachka BHK-21/2-17b]. Certificate of Authorship No. 240289 USSR. All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute; 1986. (in Russian)
- Eliseev A. K., Melnik N. V., Zenov N. I., Litenkova I. Yu., Bogach V. N., Ivanov V. S., et al. BHK-21/13-02-transplantable monolayer-suspension subline of newborn syrian hamster kidney cells, intended for FMD virus and rabies virus reproduction. Patent No. 2614074 Russian Federation, Int. C12N 5/07 (2010.01). FKP "Shchelkovskij biokombinat". No. 2005116301. Date of filing: 31.05.2005. Date of publication: 22.03.2017. Bull. No. 9. (in Russian)
- Eliseev A. K., Zenov N. I., Krasutkin S. N., Mel'nik N. V., Khajkina L. S., Litenkova I. Yu., et al. BHK-21/13-13-finite monolayer-suspension cell subline of kidney of new-born syrian hamster, intended for reproduction of foot-and-mouth disease virus and rabies virus. Patent No. 2553552 Russian Federation, Int. C12N 5/071 (2010.01). FKP "Shchelkovskij biokombinat". No. 2014131866/10. Date of filing: 01.08.2014. Date of publication: 20.06.2015. Bull. No. 17. (in Russian)
- Russian Cell Culture Collection (RCCC) [Rossijskaya kollekcija kletochnyh kul'tur (RKKK)]: catalogue. Ed. by G. P. Pinayev, G. G. Polyanskaya. St. Petersburg; 2004. 315 p. (in Russian)
- Bailey J. E., Ollis D. F. *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2nd ed. New Delhi: McGraw-Hill, Inc.; 1986. 984 p.
- Cell culture techniques [Metody kul'tivirovaniya kletok]: Proceedings of the Academy of Sciences of the USSR. Executive ed. G. P. Pinayev. L.: Nauka; 1988. 319 p. (in Russian)
- Catalogue of Russian Cell Culture Collection [Katalog Rossijskoj kollekcii kletochnyh kul'tur]. Executive ed. G. P. Pinayev, G. G. Polyanskaya. Омск: Омск State Pedagogical University (OSPU); 1999. 429 p. (in Russian)
- Yurkov S. G., Zuyev V. V., Sidorov S. I., Kushnir S. D., Smylova N. Yu., Neverovskaya N. S., et al. Catalogue of Cell Culture Collection of the All-Russian Research Institute of Veterinary Virology and Microbiology (VNIIVViM) [Katalog kollekcii kletochnyh kul'tur VNIIVViM]. Pskov; 2000; 60–62. eLIBRARY ID: 21632428. (in Russian)
- Lozovoy D. A., Guseva M. N., Mikhailishin D. V., Doronin M. I., Manin B. L., Shishkova A. A., et al. BHK-21/SUSP/ARRIAN – 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, Int. C12N 5/10 (2006.01). FGBI "ARRIAN". No. 2019131190. Date of filing: 01.10.2019. Date of publication: 02.06.2020. Bull. No. 16. (in Russian)

12. Polyanskaya G. G. Karyotype variation patterns in cell cultures during long-term cultivation in different cell lines [Zakonomernosti kariotipicheskoy izmenchivosti v kletochnyh kul'turah pri dlitel'nom kul'tivirovanii v raznyh liniyah]: author's abstract of Candidate of Science (Biology) thesis. St. Petersburg; 2000. 38 p. (in Russian)

13. Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Battips D.M., Hungerford D. A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* 1960; 20: 613–616. DOI: 10.1016/0014-4827(60)90138-5.

14. Mamayeva S. Ye. Chromosomal analysis of cultured cells [Хромосомный анализ культивируемых клеток]. In: *Cell culture techniques*. L.: Nauka; 1987; 78–98. (in Russian)

15. Kudryavtsev I. V., Khaydukov S. V., Zurochka A. V., Chereshev V. A. Flow cytometry in experimental biology [Protochnaya citometriya v ekspe-

perimental'noj biologii]. Yekaterinburg: Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (UB RAS); 2012. 192 p. (in Russian)

16. Ormerod M. G., Tribukait B., Giaretti W. Consensus report of the task force on standardisation of DNA flow cytometry in clinical pathology. *Analytical Cellular Pathology*. 1998; 17 (2): 103–110. DOI: 10.1155/1998/842306.

17. Rais Y., Zviran A., Geula S., Gafni O., Chomsky E., Viukov S., et al. Deterministic direct reprogramming of somatic cells to pluripotency. *Nature*. 2013; 502 (7549): 65–70. DOI: 10.1038/nature12587.

Поступила 12.03.2021

Принята в печать 05.05.2021

Received on 12.03.2021

Approved for publication on 05.05.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Гусева Марина Николаевна, кандидат биологических наук, старший 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.

Шарыпов Андрей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник отдела координации научно-исследовательских работ ФГБУ ЦНМВЛ, г. Москва, Россия.

Мудрак Наталья Станиславовна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

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

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

Marina N. Guseva, Candidate of Science (Biology), Senior 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.

Andrey S. Sharypov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Researcher, Department for Research Coordination, FSBI CNMVL, Moscow, Russia.

Natalia S. Mudrak, Doctor of Science (Biology), Chief Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

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



Переваримость питательных веществ рациона с рыбной мукой у приматов

Н. В. Гапонов^{1,2}, Л. Н. Гамко³

¹ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (ФГБНУ «НИИ МП»), г. Сочи, Россия

² Всероссийский научно-исследовательский институт люпина – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр кормопроизводства и агроэкологии имени В. Р. Вильямса» (ВНИИ люпина – филиал ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса»), пос. Мичуринский, Брянская обл., Россия

³ ФГБОУ ВО «Брянский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Брянский ГАУ), с. Кокино, Брянская обл., Россия

^{1,2} ORCID 0000-0002-5086-7943, e-mail: nv.1000@bk.ru

³ ORCID 0000-0002-1887-0587, e-mail gamkol@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты изучения влияния рыбной муки на переваримость и усвоение питательных веществ корма у приматов. Рыбная мука – кормовой продукт, вырабатываемый из промышленных или сорных видов рыбы, морских млекопитающих, беспозвоночных, отходов их переработки. В состав рыбной муки входит комплекс природных веществ и минералов, в том числе фосфор, кальций, йод, селен, ряд незаменимых аминокислот, а также витамины А, Д и группы В. Известно, что рыбная мука богата обменной энергией и протеином. В одном килограмме муки содержится до 700 г сырого протеина и до 15 МДж обменной энергии. Следует отметить, что рыбная мука легко переваривается и хорошо усваивается организмом животных. Однако в литературе имеется недостаточное количество данных по использованию рыбной муки в рационах приматов в качестве высокопротеинового корма. В этой связи целью исследований являлось изучение влияния рыбной муки на переваримость питательных веществ комбикорма у самцов макаков-резусов и на основании полученных данных определение перспективы дальнейшего использования в кормлении приматов. Был изучен химический состав и определена питательность полученного полнорационного комбикорма. Рассчитана экономическая эффективность использования рыбной муки в рационах приматов. На основании экспериментальных данных установлено, что введение взамен высокобелковых компонентов 18% рыбной муки обеспечивает улучшение процесса усвоения питательных веществ корма у подопытных приматов и обеспечивает снижение себестоимости полнорационного гранулированного комбикорма.

Ключевые слова: переваримость, ретенция, рыбная мука, рацион, макак-резус, приматы

Для цитирования: Гапонов Н. В., Гамко Л. Н. Переваримость питательных веществ рациона с рыбной мукой у приматов. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 239–242. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-239-242.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Гапонов Николай Васильевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории переработки и пищевого использования люпина ВНИИ люпина – филиала ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса», 241524, Россия, Брянская обл., Брянский р-н, пос. Мичуринский, ул. Березовая, 2, e-mail: nv.1000@bk.ru.

Nutrient digestibility of fishmeal rations in primates

N. V. Gaponov^{1,2}, L. N. Gamko³

¹ FSBSI "Research Institute of Medical Primatology" (FSBSI "RIMP"), Sochi, Russia

² All-Russian Lupine Research Institute – Branch of the Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology, Michurinsky settlement, Bryansk Oblast, Russia

³ FSBEI HE "Bryansk State Agrarian University" (FSBEI HE Bryansk SAU), Kokino, Bryansk Oblast, Russia

^{1,2} ORCID 0000-0002-5086-7943, e-mail: nv.1000@bk.ru

³ ORCID 0000-0002-1887-0587, e-mail gamkol@mail.ru

SUMMARY

The results of the study on effects of fishmeal on nutrient digestibility and intake in primates are given in the paper. Fishmeal is a feeding stuff, manufactured from fish, marine mammals, invertebrates not suitable for human consumption and by-products of their processing. Fishmeal nutrient composition includes natural substances and minerals, including phosphorus, calcium, iodine, selenium, several essential amino acids, as well as vitamins A, D and B complex. Fishmeal is known to be rich in digestible energy and proteins. One kilogram of fishmeal contains 700 grams of raw protein and up to 15 MJ of digestible energy. It should be noted that fishmeal is easily digested by animals. Nevertheless, there is a lack of data in publications on use of fishmeal as high protein feed in rations of primates. In this regard, the aim of the study was to analyze the effects of fishmeal on digestibility of mixed feed nutrients in male rhesus-macaques and to use the obtained results for understanding of prospects of fishmeal further use for feeding primates. The chemical composition and nutritional value of the total mixed ration was determined. The economic effectiveness of the fishmeal use in the rations of primates was calculated. Based on the experimental data, it was established that the inclusion of fishmeal (18% out of total) into the diet contributes to the improvement of feed intake in experimental primates and reduces the costs of complete granular feed.

Keywords: digestibility, retention, fishmeal, diet, rhesus macaque (*Macaca mulatta*), primates

For citation: Gaponov N. V., Gamko L. N. Nutrient digestibility of fishmeal rations in primates. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 239–242. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-239-242.

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

For correspondence: Nikolay V. Gaponov, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Laboratory for Lupine Processing and Use in Food, All-Russian Lupine Scientific Research Institute – Branch of the Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology, 241524, Russia, Bryansk Oblast, Michurinsky settlement, Berezovaya, 2, e-mail: nv.1000@bk.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Качественные рационы кормления лежат в основе рентабельности содержания приматов и других видов животных. Одним из наиболее важных компонентов качественного корма является рыбная мука, вырабатываемая на современных жиромучных предприятиях и обладающая ценными кормовыми свойствами. Установлено, что протеин рыбной муки усваивается животными значительно лучше, чем протеин растительных кормов. Опыт показывает, что рыбная мука, добавляемая в рацион, повышает эффективность использования других кормов, бедных протеином и жиром, а включение ее в состав комбикорма способствует ускорению роста животных, увеличению их массы, улучшению общего состояния [1–3]. В результате биохимических исследований в кормах из рыбной муки был обнаружен так называемый белковый фактор (AR), который отвечает за усвоение животными растительного белка, витамина В12 и других водорастворимых витаминов группы В. По этой причине рыбная кормовая мука является не только источником полноценного животного белка, но и катализатором биохимических процессов [4, 5]. Так, исследованиями Ленинградского зоотехнического института установлено, что животные, усваивавшие из растительного корма 31,8% азота, после прибавления в корм тресковой муки в количестве 5% стали усваивать до 36,3% азота, т. е. усвояемость растительных белков повысилась на 12,5% [1, 6]. Следовательно, включение рыбной муки в кормовой рацион способствует развитию здоровых животных. Рыбная мука обладает уникальным составом. Прежде всего, речь идет об удивительно широком комплексе природных веществ и минералов, которые в ней содержатся: фосфора, кальция, набора аминокислот, йода, селена, а также витаминов А, D и группы В. Благодаря наличию данных элементов улучшаются процессы пищеварения и укрепляется иммунитет. По содержанию перевариваемого протеина рыбная мука занимает одно из первых мест среди кормовых средств. Так, в 1 кг рыбной муки содержится не менее 535 г перевариваемого протеина. Поэтому животные, получающие в составе рациона рыбную муку, меньше подвержены заболеваниям, а благодаря оптимальному соотношению аминокислот быстрее развивается молодняк. Рыбная мука считается ценным профилактическим средством против заболеваний щитовидной железы, так как в ее состав входит йод в виде органических соединений. К примеру, в тресковом жире содержится от 4,5 до 15,2 мг йода на 1 кг жира [6, 7].

Химическая природа экстрактивных веществ рыбной муки еще недостаточно изучена. Однако установлено благоприятное влияние рыбной муки высшего сорта на

аппетит животных. Получающие рыбную муку животные хорошо усваивают значительное количество питательных веществ корма и имеют высокую скорость роста. Благодаря своим компонентам она способствует развитию жизненно важных систем организма, активации иммунной системы, повышению усвояемости питательных веществ [8–11]. Переваримость качественной рыбной муки достигает 90%. Кроме того, введение в рацион рыбной муки положительно влияет на конверсию кормов, а чем меньше коэффициент конверсии, тем эффективнее производство. Поэтому рыбная мука широко используется при изготовлении комбинированных кормов, получивших в нашей стране широкое распространение.

Цель исследования – изучить эффект частичной или полной замены основных ингредиентов в составе корма рыбной мукой и определить переваримость питательных веществ рациона.

Для ее достижения были поставлены следующие задачи:

- изучить усвояемость полезных веществ в рационе с рыбной мукой на самцах макаков-резусов;
- рассчитать экономическую эффективность использования рыбной муки для кормления приматов;
- провести математическую обработку полученных данных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были самцы макаков-резусов (*Macaca mulatta*) в возрасте от 7 до 15 лет. Для проведения эксперимента на базе ФГБНУ «НИИ МП» в виварии по методу пар-аналогов путем подбора по полу, происхождению, возрасту и физиологическому состоянию были сформированы 2 группы по 5 животных в каждой. Опыт проводили в соответствии с общепринятыми методами исследования, разработанными ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста и другими организациями [7, 12, 13].

Испытания рыбной муки и других компонентов кормов проходили в ФГБНУ «НИИ МП». На основании полученных лабораторных данных и справочной литературы был составлен кормовой рацион для приматов.

Неорганическую часть биохимического состава полнорационного комбикорма определяли на рентгенофлуоресцентном волнодисперсионном спектрометре «СПЕКТРОСКАН МАКС-GVM» (ООО «НПО «СПЕКТРОН», Россия) в соответствии с «Методикой измерения массовой доли Mg, Al, Si, Zn, P, S, Cl, K, Ca, Ba, Ti, Cr, Mn, Fe, Ni, Br, Rb, Sr в порошковых пробах растительных материалов рентгенофлуоресцентным методом с применением аппаратов рентгеновских для спектрального анализа СПЕКТРОСКАН МАКС (M-049-PM/12)», ФР.1.31.2014.17343.

Остальные показатели определяли на спектральном анализаторе кормов NIRS DS2500F (FOSS, Дания).

В течение экспериментального периода приматы контрольной группы получали полнорационный гранулированный комбикорм, приготовленный на производственной площадке учреждения на установке компании Münch-Edelstahl GmbH (Германия). Основу комбикорма составляли исходные компоненты: пшеница, соевый шрот, сухое обезжиренное молоко, жмых подсолнечника, кукуруза, кукурузный глютен, яичный порошок, сахар и подсолнечное масло. На долю пшеницы приходилось 21,4% энергетической ценности рациона. В общей структуре комбикорма соевый шрот и жмых подсолнечника (количество жиров 10%) занимали 17,42 и 13,83% соответственно. Значительную часть энергетической ценности рациона – 14,39% – составляло сухое обезжиренное молоко. Рацион животных контрольной группы энергетически сбалансировали введением подсолнечного масла (0,8%). Остальные 32,16% энергии приходились на кукурузный глютен (11,24%), кукурузу (13,35%), яичный порошок (3,3%) и сахар (4,27%).

Приматы опытной группы с комбикормом получали рыбную муку, которая составила 18% питательной ценности рациона. По экспериментальной схеме за счет включения 60–65% рыбной муки содержание сухого обезжиренного молока снизилось на 100%, подсолнечного шрота – на 10%, яичного порошка – на 70%, кукурузной клейковины – на 2%. Рацион по сырому протеину был сбалансирован по общепринятым нормам, дефицит сырой клетчатки был незначителен, но в пределах допустимой нормы. По остальным питательным веществам отклонения находились в пределах нормативов требований [14].

Эксперименты на животных проводили в соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Хельсинкской декларации (2000 г.) и Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях. Исследование было одобрено биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ МП».

Полученные результаты обрабатывали статистически и выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок. Статистическую значимость различий определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа с последующими апостериорными поправками на множественные сравнения по методу Тьюки и Сидака. Принятый уровень статистической значимости – $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для определения усвояемости и переваримости питательных веществ рациона проводили физиологическое исследование на 10 головах приматов *M. mulatta*. Ежедневно регистрировали количество потребляемого животными корма и количество выделенных ими экскрементов. Затем проводили анализ химического состава корма и кала, позволяющий определить количество потребляемых и выводимых за день питательных веществ. На основании полученных данных определяли количество усвоенных питательных веществ и коэффициенты переваримости (табл.).

Анализ представленных в таблице данных показал, что лучшие результаты по усвояемости для большей части стандартизованного органического вещества наблюдали у приматов опытной группы. В данной группе усвояемость сырого протеина и жира была выше, чем в контроле, на 1,66 и 21,92% соответственно ($p < 0,01$). Следует отметить, что безазотистые экстрактивные вещества, в структуре которых большую роль играет крахмал, в контрольной группе усваивались на 11,74% лучше, чем в опытной.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что включение в структуру рационов приматов рыбной муки (18% по питательности) оказало положительное влияние на переваримость и использование основных питательных веществ.

Поскольку экономические показатели эффективности кормления приматов относятся к главным индикаторам системы регулирования рентабельности их содержания, был произведен расчет показателей себестоимости производства опытного полнорационного комбикорма с рыбной мукой в сравнении с контрольным.

В структуре рациона контрольной группы самым дорогим компонентом является сухое обезжиренное молоко, на его долю в составе приходится 14,39% (24 рубля 20 копеек из себестоимости 1 кг комбикорма). Следующий по дороговизне компонент – соевый шрот, на который приходится 17,42% питательной ценности, затраты на него составили 9 рублей 66 копеек. Самая высокая закупочная цена была установлена на яичный порошок, но ввиду его незначительного содержания в структуре рациона (3,3%) он обошелся в 6 рублей 98 копеек. Затраты на остальные составляющие рациона находятся на приемлемом уровне, что связано с их изначально низкой стоимостью или низким процентным содержанием в составе кормов. Таким образом, цена 1 кг цельного корма для контрольной группы составляла 70 рублей 96 копеек.

При создании новой рецептуры комбикорма для приматов опытной группы рацион питания существенно изменили. В частности, рыбная мука заменила

Таблица
Переваримость питательных веществ рациона у приматов, % (X ± Sx)

Table
Nutrient digestibility of primates' rations, % (X ± Sx)

Показатели	Сырой протеин	Сырой жир	Сырая клетчатка	Сырая зола	БЭВ	Кальций	Фосфор
Контроль	27,34 ± 1,04	20,09 ± 0,98	16,88 ± 1,01	49,58 ± 0,88	54,05 ± 1,12	18,37 ± 1,94	21,79 ± 2,01
Опыт	29,00 ± 1,14	42,01 ± 1,85**	52,13 ± 1,26	53,63 ± 1,03	42,31 ± 1,27	94,14 ± 1,18*	90,00 ± 1,84

БЭВ – безазотистые экстрактивные вещества (NFE – nitrogen-free extracts).

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

соевый шрот на 7%, жмых подсолнечника – на 10%, яичный порошок – на 50% и сухое обезжиренное молоко – на 100%. В структуре кормового рациона рыбная мука (60–65%) в пересчете на пищевую энергетическую ценность составила 18%, цена – 6 рублей 84 копейки. Стоимость 1 кг полнорационного комбикорма в итоге составила 48 рублей 38 копеек. Таким образом, за счет включения рыбной муки в состав цельного корма появилась возможность снизить стоимость 1 кг комбикорма на 22 рубля 58 копеек.

Себестоимость конверсии рационов зависит от стоимости кормов и их питательной ценности. В контрольной группе себестоимость 1 МДж составила 5 рублей 32 копейки. Себестоимость обменной энергии в опытной группе была ниже и составила 3 рубля 63 копейки за 1 МДж. Подобная закономерность отмечалась и по сырому протеину. Низкая себестоимость 1 г протеина наблюдалась в опытной группе, она составила 14 копеек, а в контрольной группе – 26 копеек.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Из анализа данных, полученных в результате эксперимента, можно сделать вывод, что включение в состав полнорационного комбикорма для приматов рыбной муки позволяет обогатить рацион питательными веществами, улучшить усвояемость питательных веществ и снизить затраты на корм без потери его качества.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ (п. п. 2, 3, 8–10 см. REFERENCES)

1. Позняковский В. М., Рязанова О. А., Каленик Т. К., Дацун В. М. Экспертиза рыбы, рыбопродуктов и нерыбных объектов водного промысла. Качество и безопасность. Новосибирск: Сибирское университетское издательство; 2005. 311 с.
2. Воробьев В. И., Нижникова Е. В., Лемперт О. Т., Нефедова Н. П. Альтернативные источники получения аналогов рыбной муки. *Известия КГТУ*. 2015; 38: 74–82. Режим доступа: https://klgtu.ru/upload/science/magazine/news_kstu/2015_38/vorobev.pdf.
3. Викторов П. И., Менькин В. К. Методика и организация зоотехнических опытов. М.: Агропромиздат; 1991. 112 с. Режим доступа: <https://docplayer.ru/31417368-P-i-viktorov-v-k-menkin-metodika-i-organizaciya-zootekhnicheskikh-opytov.html>.
4. Лебедев Е. И. Комплексное использование сырья в пищевой промышленности. М.: Легкая и пищевая промышленность; 1982. 239 с.
5. Овсянников А. И. Основы опытного дела в животноводстве. М.: Колос; 1976. 304 с.
6. Дегтярев В. Н. Гидромеханические процессы обработки гидробионтов: монография. Петропавловск-Камчатский: КамчатГТУ; 2008. 171 с.
7. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных: справочное пособие. 3-е изд. перераб. и доп. Под ред. А. П. Калашникова, В. И. Фисинина, В. В. Щеглова, Н. И. Клейменова. М.; 2003. 456 с.
8. Гапонов Н. В. Биологическая значимость кормов животного происхождения и пробиотического препарата в кормлении приматов. *Кормопроизводство*. 2021; 1: 42–46. DOI: 10.25685/KRM.2021.1.2021.006.

14. Гапонов Н. В. Способ оптимизации полнорационного комбикорма рыбной мукой для снижения себестоимости содержания приматов. Патент № 2733291 Российская Федерация, МПК А23К 10/22 (2016.01) А23К 40/10 (2016.01) А23К 50/00 (2016.01). № 2019144389. Заявл. 24.12.2019. Оpubл. 01.10.2020. Бюл. № 28.

REFERENCES

1. Poznyakovskiy V. M., Ryzanova O. A., Kalenik T. K., Datsun V. M. Testing of fish and fish products. Quality and safety [Ekspertiza ryby, ryboproduktov i nerybnykh ob'ektov vodnogo promysla. Kachestvo i bezopasnost']. Novosibirsk: Siberian University Publishing office, 2005. 311 p. (in Russian)
2. Masumura Y., Torii S., White H. J., Tanaka K. Changes with age of water-binding capacity and acid mucopolysaccharide content in the rat skin. *Journal of Gerontology*. 1971; 26 (3): 386–390. DOI: 10.1093/geronj/26.3.386.
3. Miles R. D., Chapman F. A. The benefits of fish meal in aquaculture diets. *The Fish Site*. 31 July 2006. Available at: <http://www.thefishsite.com/articles/200/the-benefits-of-fish-meal-in-aquaculture-diets>.
4. Vorobjov V. I., Nizhnikova E. V., Lempert O. T., Nefedova N. P. Alternative sources of obtaining fish meal analogues. *KSTU News*. 2015; 38: 74–82. Available at: https://klgtu.ru/upload/science/magazine/news_kstu/2015_38/vorobev.pdf. (in Russian)
5. Viktorov P. I., Menkin V. K. Methodology and design of zootechnical trials [Metodika i organizaciya zootekhnicheskikh opytov]. M.: Agropromizdat; 1991. 112 p. Available at: <https://docplayer.ru/31417368-P-i-viktorov-v-k-menkin-metodika-i-organizaciya-zootekhnicheskikh-opytov.html>. (in Russian)
6. Lebedev E. I. Comprehensive use of raw materials in food industry [Kompleksnoe ispol'zovanie syr'ya v pishchevoj promyshlennosti]. M.: Lyogkaya i pishchavaya promyshlennost; 1982. 239 p. (in Russian)
7. Ovsyannikov A. I. Principles of experimenting in livestock production [Osnovy opytnogo dela v zhivotnovodstve]. M.: Kolos; 1976. 304 p. (in Russian)
8. Gaponov N. V., Svistunov S. V., Bondarenko N. N., Romanenko I. A. Effect of deuterium water on blood values and digestibility of nutrients of rhesus macaque. *Bulletin of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan*. 2020; 2 (384): 22–28. DOI: 10.32014/2020.2518-1467.37.
9. Grimble G. K., Silk D. B. A. Milk Protein and Enteral and Parenteral Feeding in Disease. In: *Milk Proteins. Nutritional, Clinical, Functional and Technological Aspects*. eds. C. A. Barth, E. Schlimme. Darmstadt: Steinkopff-Verlag; 1989; 270–282. DOI: 10.1007/978-3-642-85373-9_43.
10. Gaponov N. V., Lenkova T. N. Biotransformation of nutrients in the body of primates. *Innovative Scientific Research*. 2020; 12-1 (2): 5–14. DOI: 10.5281/zenodo.4444589.
11. Degtaryov V. N. Hydro-mechanical processing of fish [Gidromekhanicheskie processy obrabotki gidrobiontov]: monography. Petropavlovsk-Kamchatsky: KamchatGTU; 2008. 171 p. (in Russian)
12. Limits and rations in livestock feeding [Normy i raciony kormleniya sel'skhozajstvennykh zhivotnykh]: handbook. 3rd ed., revised and amended. Ed. by A. P. Kalashnikov, V. I. Fisinin, V. V. Scheglov, N. I. Kleymenov. M.; 2003. 456 p. (in Russian)
13. Gaponov N. V. Biological value of fish flour and probiotic preparations in primate feeding. *Fodder Production*. 2021; 1: 42–46. DOI: 10.25685/KRM.2021.1.2021.006. (in Russian)
14. Gaponov N. V. Method for optimization of complete feedstuff with fish flour for cost reduction of primates keeping. Patent No. 2733291 Russian Federation, Int. A23K 10/22 (2016.01) A23K 40/10 (2016.01) A23K 50/00 (2016.01). No. 2019144389. Date of filing: 24.12.2019. Date of publication: 01.10.2020. Bull. No. 28. (in Russian)

Поступила 12.05.2021

Принята в печать 30.06.2021

Received on 12.05.2021

Approved for publication on 30.06.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гапонов Николай Васильевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории переработки и пищевого использования люпина, ВНИИ люпина – филиал ФНЦ «ВИК им. В. Р. Вильямса», пос. Мичуринский, Брянская обл., Россия.

Гамко Леонид Никифорович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры кормления животных, частной зоотехнии и переработки продуктов животноводства, ФГБОУ ВО «Брянский ГАУ», с. Кокино, Брянская обл., Россия.

Nikolay V. Gaponov, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Laboratory for Lupine Processing and Use in Food, All-Russian Lupine Scientific Research Institute – Branch of the Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology, Michurinsky, Bryansk Oblast, Russia.

Leonid N. Gamko, Doctor of Science (Agriculture), Professor, Department of Animal Feeding, Private Zootechnical Practices and Livestock Product Processing, FSBEI HE Bryansk SAU, Kokino, Bryansk Oblast, Russia.



Особенности подготовки и выдачи производственного штамма 5584 *Burkholderia mallei* в соответствии с требованиями биологической безопасности

Е. А. Артемьева¹, Л. А. Мельникова², А. П. Родионов³

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), г. Казань, Россия

¹ ORCID 0000-0002-6204-6077, e-mail: artemevaelena21@mail.ru

² ORCID 0000-0002-0159-3843, e-mail: vnivi@mail.ru

³ ORCID 0000-0003-0853-5678, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Ветеринарной службой Российской Федерации проводится комплекс мер, направленных на регулярный контроль состояния поголовья сельскохозяйственных животных, профилактику инфекционных заболеваний и недопущение их завоза в страну, а в случае диагностирования – предотвращение распространения и купирование в кратчайшие сроки. Успешная реализация данных мероприятий возможна благодаря использованию различных диагностических, профилактических и лечебных препаратов. С целью их получения предприятия биологической промышленности применяют производственные и эталонные штаммы микроорганизмов со стабильными биологическими свойствами, которые хранятся в государственных коллекциях микроорганизмов. Единственным держателем штаммов возбудителя сапа является лаборатория коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», подведомственного Министерству сельского хозяйства Российской Федерации. В связи с официальным запросом ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» о получении производственного штамма 5584 *Burkholderia mallei* из коллекции учреждения были выполнены следующие работы: проведен пассаж штамма на золотистых хомячках, определена жизнеспособность и изучены биологические свойства культуры, в установленном порядке, с соблюдением требований биологической безопасности, произведена выдача штамма. В процессе проведенной работы выделена культура штамма 5584 *Burkholderia mallei*, которая была лиофилизована. Перед выдачей были изучены биологические свойства лиофилизованного штамма 5584 *Burkholderia mallei* на соответствие их паспортным данным. Полученные результаты показали, что в лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» созданы оптимальные условия для сохранения его жизнеспособности и исходных биологических свойств по истечении 5 лет хранения. Анализ данных, полученных при выполнении работ по передаче штамма 5584 *Burkholderia mallei*, позволил дать оценку действий на всех ее этапах. Установлено, что порядок выдачи запрашиваемого производственного штамма возбудителя сапа соответствовал требованиям биологической безопасности и нормативно-правовым документам, регламентирующим проведенные мероприятия.

Ключевые слова: *Burkholderia mallei*, жизнеспособность, биологические свойства, передача штамма

Благодарность: Работа выполнена за счет средств ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Коллекционирование, поддержание, пополнение и хранение штаммов возбудителей особо опасных болезней (ООБ), организация их учета, проведение исследований по изучению биологических свойств и обеспечения предприятий агропромышленного комплекса штаммами возбудителей ООБ».

Для цитирования: Артемьева Е. А., Мельникова Л. А., Родионов А. П. Особенности подготовки и выдачи производственного штамма 5584 *Burkholderia mallei* в соответствии с требованиями биологической безопасности. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 243–247. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-243-247.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Для корреспонденции: Артемьева Елена Александровна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок-2, e-mail: artemevaelena21@mail.ru.

Preparation and transfer of *Burkholderia mallei* production strain 5584 in accordance with the biosafety requirements

Е. А. Artemeva¹, Л. А. Melnikova², А. П. Rodionov³

Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety" (FSBSI "FCTRBS-ARRVI"), Kazan, Russia

¹ ORCID 0000-0002-6204-6077, e-mail: artemevaelena21@mail.ru

² ORCID 0000-0002-0159-3843, e-mail: vnivi@mail.ru

³ ORCID 0000-0003-0853-5678, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com

SUMMARY

The Veterinary Service of the Russian Federation takes measures to ensure regular control of livestock health status, to prevent infectious diseases and their introduction into the country; and if such diseases are diagnosed, it takes measures to prevent their spread and contain outbreaks as soon as possible. Success of the taken measures depends on the use of various diagnostic, preventive and therapeutic drugs. In order to produce such medicinal products, biofactories use production and reference strains with stable biological properties, which are stored in national collections of microorganisms. The only keeper of glanders strains is the Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms in the FSBSI «FCTRBS-ARRVI», subordinated to the Ministry of Agriculture of the Russian Federation. The following steps were taken due to the official request from FKP Kursk Biofactory – BИOK Company for the transfer of *Burkholderia mallei* production strain 5584 from the collection of the institution: the strain was passaged in golden hamsters, its viability was determined and biological properties of the culture were studied. The strain was transferred in accordance with the established procedure and in compliance with the biosafety requirements. As the work progressed, *Burkholderia mallei* strain 5584 culture was isolated and freeze-dried. Before the transfer, biological properties of the freeze-dried *Burkholderia mallei* strain 5584 were studied for their compliance with the passport data. The obtained results showed that the Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms in the FSBSI «FCTRBS-ARRVI» provides optimal conditions to preserve the strain viability and initial biological properties after 5 years of storage. Analysis of the data obtained during the transfer of *Burkholderia mallei* strain 5584 allowed us to assess the actions taken at all stages of the procedure. It was established that the transfer procedure for the requested glanders production strain complied with the biosafety requirements and regulatory framework regulating the process.

Keywords: *Burkholderia mallei*, viability, biological properties, strain transfer

Acknowledgements: The work was carried out using the funds of the FSBSI “FCTRBS-ARRVI” within the research “Collecting, maintaining, replenishing and storing strains of highly dangerous diseases (HDD), keeping records of them, studying their biological properties and providing agro-industry companies with HDD strains”.

For citation: Artemeva E. A., Melnikova L. A., Rodionov A. P. Preparation and transfer of *Burkholderia mallei* production strain 5584 in accordance with the biosafety requirements. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 243–247. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-243-247.

Conflict of interests: The authors declare that there is no conflict of financial/non-financial interests associated with the paper.

For correspondence: Elena A. Artemeva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI “FCTRBS-ARRVI”, 420075, Russia, Republic of Tatarstan, Kazan, Scientific town-2, e-mail: artemevaelena21@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Благополучие Российской Федерации по инфекционным болезням зависит от проведения комплекса противоэпизоотических мероприятий, которые предусматривают систематический мониторинг состояния поголовья сельскохозяйственных животных, профилактики возникновения и распространения инфекций и предупреждение завоза их в страну, а в случае диагностирования – предотвращение развития и купирование в кратчайшие сроки [1].

В настоящее время, с учетом тенденции глобализации распространения инфекций, неуклонного появления новых и возвращения забытых инфекционных заболеваний, всеобщей урбанизации и новых условий хозяйствования, ни одно государство не способно полностью обезопасить свою территорию от заноса возбудителей особо опасных болезней. Возникновение таких инфекций создает угрозу заболевания не только животных, но и людей, а также может нанести ущерб экономике страны, ее хозяйственным и культурным связям [2].

Все это актуализирует разработку и производство надежных и высокоспецифичных диагностических и профилактических препаратов, лечебных средств и современных индикационных систем, выпуск которых производится на биопредприятиях страны и регламентируется указанием Главного государственного ветеринарного инспектора Российской Федерации № 22-7/443 от 08.05.92 «О порядке выдачи разрешения на право выпуска ветеринарных препаратов и аттестации». Для изготовления диагностикумов и вакцин биопредприятия используют производственные и эталон-

ные штаммы микроорганизмов, которые получают из государственных коллекций, где созданы оптимальные условия для их сохранения в первоначальном состоянии, исключающие трансформирование биологических, серологических, токсикологических свойств и чувствительности к антибиотикам [3–8]. Вся коллекционная деятельность, связанная с использованием штаммов особо опасных микроорганизмов, осуществляется в соответствии с нормативно-правовой базой и регулируется федеральными законами и постановлениями Правительства РФ [8, 9].

Опасной бактериальной инфекцией из группы зоонозов является сап – особо опасное высококонтагиозное заболевание животных и человека, против которого до сих пор не разработаны специфические средства профилактики и лечения. В литературных источниках отмечаются случаи профессионального инфицирования бактерией *Burkholderia mallei* врачей-микробиологов, работающих с данным патогеном, в результате чего буркхольдерию по патогенности приравнивают к таким возбудителям, как *Yersinia pestis* и *Francisella tularensis*. За последнее время в лабораториях США и России отмечены несколько случаев заражения людей *B. mallei*, в том числе с летальным исходом [10]. В настоящее время Российская Федерация благополучна по данному заболеванию, но опасность заноса возбудителя из других стран сохраняется [2].

С учетом вышесказанного сохраняется необходимость в выпуске сапных диагностических препаратов. ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» выпускает «Сыворотку сапную для реакции связывания комплемента», «Антиген сапной для реакции связывания ком-

плементы», «Антиген сапной цветной для пластинчатой реакции агглютинации», а также «Маллеин». Данные препараты изготавливают на основе производственного штамма 5584 *B. mallei*, получаемого в установленном порядке из государственной (ведомственной) лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», являющейся единственным держателем штаммов возбудителя сапа из подведомственных Министерству сельского хозяйства Российской Федерации учреждений [2].

В связи с официальным запросом ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» о получении производственного штамма 5584 *B. mallei* из лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», целью настоящей работы было проведение пассажа, определение жизнеспособности, изучение биологических свойств и выдача в установленном порядке возбудителя согласно требованиям биологической безопасности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работу проводили в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)». Был использован лиофилизированный производственный штамм 5584 *B. mallei*, хранящийся в лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» при температуре +4 °С, стандартизированный по международному стандарту Master seed.

Проведен пассаж штамма 5584 *B. mallei* через организм золотистых хомячков путем подкожного заражения в область затылка суспензией возбудителя в дозе 5 и 10 МЕ по отраслевому стандарту мутности (ГИСК имени Л. А. Тарасевича) в объеме 0,2 и 0,4 мл соответственно. Павших, а также находящихся в агональном состоянии хомячков усыпляли эфиром и вскрывали. Работу с лабораторными животными проводили согласно Хельсинкской конвенции о гуманном обращении с экспериментальными животными (1975) и Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (1986).

Таблица
Биологические свойства штамма 5584 *Burkholderia mallei*

Наименование штамма	5584 <i>Burkholderia mallei</i>
Образование сероводорода, мм	0,2
Свертывание обезжиренного молока	Свертывание молока
Рост на картофеле по Павловскому	В первые дни колонии в виде капелек меда, затем сливаются в слизистый налет, к 7–8-му дню цвет переходит в коричневый
Рост на МПГБ	Помутнение среды, на поверхности нежная пленка, со временем на дне пробирки образуется слизистый осадок, который при встряхивании поднимается в виде штопора
Рост на МПГА	Рост в виде полупрозрачных колоний с гладкими краями и перламутровым оттенком
Окраска по Граму	Грамотрицательные палочки с выраженной зернистостью
Окраска по Леффлеру	Бледно-голубые палочки с красной зернистостью
Подвижность	Неподвижен
Протеолитическая активность на 12%-м желатине	Не разжижает

Бактериологические посева из печени, селезенки, легких, места введения, крови из сердца осуществляли пастеровской пипеткой на мясоепонные агар и бульон с 4% глицерина (МПГА, МПГБ) и инкубировали при 37 °С в течение 3–10 сут. Выделенную культуру проверяли по биологическим свойствам, соответствующим возбудителю сапа. Если изучаемые признаки соответствовали данным, установленным паспортом, штамм лиофилизировали.

Перед выдачей запрашиваемого ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» штамма определяли жизнеспособность культуры и изучали ее биологические

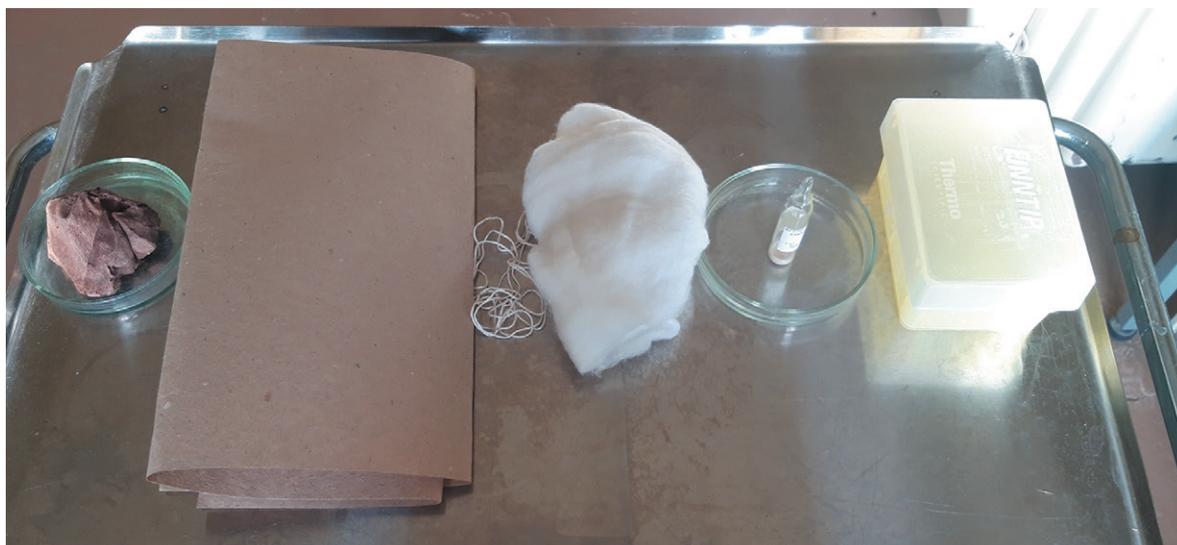


Рис. 1. Материалы, необходимые для упаковки ампул производственного штамма 5584 возбудителя сапа

Fig. 1. Materials required for packing vials with glanders production strain 5584

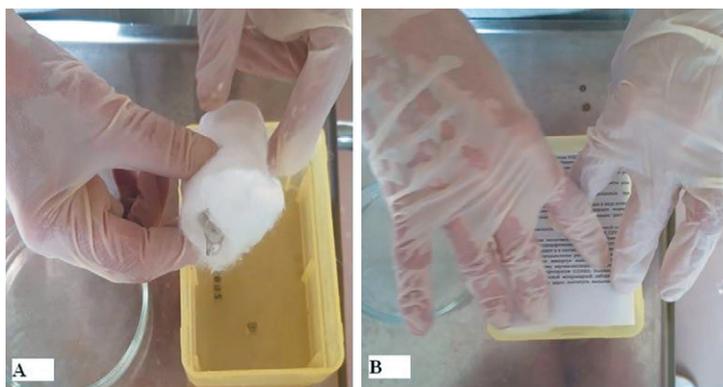


Рис. 2. Этапы укладки ампул и первых экземпляров сопроводительных документов

Fig. 2. Placing vials into containers and enclosing the first copies of the accompanying documents

свойства. Для исследования из коллекции отбирали ампулу со штаммом, сделав соответствующую запись в «Журнале учета движения патогенных биологических агентов» (форма №514/у) и «Карте индивидуального учета коллекционного патогенного биологического агента» (форма №517/у). Ампулу вскрывали, лиофилизированную массу суспендировали в 0,85%-м растворе хлорида натрия, полученную взвесь бактерий высевали на питательные среды, содержащие 4% глицерина. Ампулу и остатки культуры в ней уничтожали, оформляли «Акт вскрытия ампул с сухим ПБА I–II групп с целью высева или уничтожения» (форма №521/у) и делали отметку в «Журнале обеззараживания ПБА» (форма №520/у). Посевы инкубировали при 37 °С в термостате в течение 3–10 сут. Получив культуру штамма второй генерации, изучали биологические свойства на соответствие паспортным данным. Для этого про-

водили следующие исследования: культуральные, микроскопические (тинкториально-морфологические свойства и подвижность), биохимические (сахаролитические, протеолитические свойства).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основанием для начала работы по передаче производственного штамма 5584 *B. mallei* послужило поступление с ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» следующих документов: официальной заявки за подписью директора; ксерокопий лицензии и санитарно-эпидемиологического заключения; банковских реквизитов, удостоверяющих наличие безопасных условий работы и право на его получение.

Штамм 5584 *B. mallei* был пассирован через организм золотистых хомячков и лиофилизирован. Перед выдачей ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» штамм проверен на жизнеспособность по биологическим свойствам (табл.), указанным в паспорте, которые соответствовали показателям, приведенным в Кратком определителе бактерий Берги (1980).

Проведенные исследования показали, что штамм 5584, хранившийся в течение 5 лет в лиофилизированном виде при температуре +4 °С, жизнеспособен. При проверке биологических свойств на дифференциально-диагностических средах установили их соответствие паспортным данным, что, в свою очередь, свидетельствует о создании необходимых условий для хранения и проведения работы с ним в лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов.

Передача производственного штамма возбудителя сапа сопряжена с возможными случаями возникновения рисков контаминации (при изучении жизнеспособности и основных свойств культуры, неосторожном обращении при упаковке ампул, допущении ошибок при оформлении документов, несанкционированных действий и т. д.), что подтверждается зафиксированными случаями заражения ветеринарных и медицинских сотрудников при работе с культурами возбудителя сапа. Особенно опасны манипуляции с применением аэрозолей сапных культур, связанные с риском инфицирования ингаляционным путем [10]. В связи с вышесказанным передачу производственного штамма 5584 возбудителя сапа в ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» осуществляли строго в соответствии с требованиями СП 1.2.036-95 и СП 1.3._-17.

Проверенный по биологическим свойствам производственный штамм 5584 *B. mallei* передан с письменного разрешения директора ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» по акту, с указанием количества выданных ампул (форма № 525/у) и отметкой в «Журнале выдачи патогенных биологических агентов» (форма № 516/у), представителям ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» по представлению документов, удостоверяющих их личность, и доверенности. Для упаковки ампулы со штаммом были подготовлены водонепроницаемый пенал с герметически закрывающейся крышкой, гигроскопическая вата, бечевка, оберточная бумага, сургуч (рис. 1).

На содержимое пенала оформлены сопроводительные документы в двух экземплярах: письмо на официальном бланке на содержимое пенала и акт упаковки; ксерокопия паспорта на штамм с полной его характеристикой; справка о транспортировании спецгруза с информацией об организации-получателе, дате отправки и виде транспорта. Ампула с лиофилизирован-

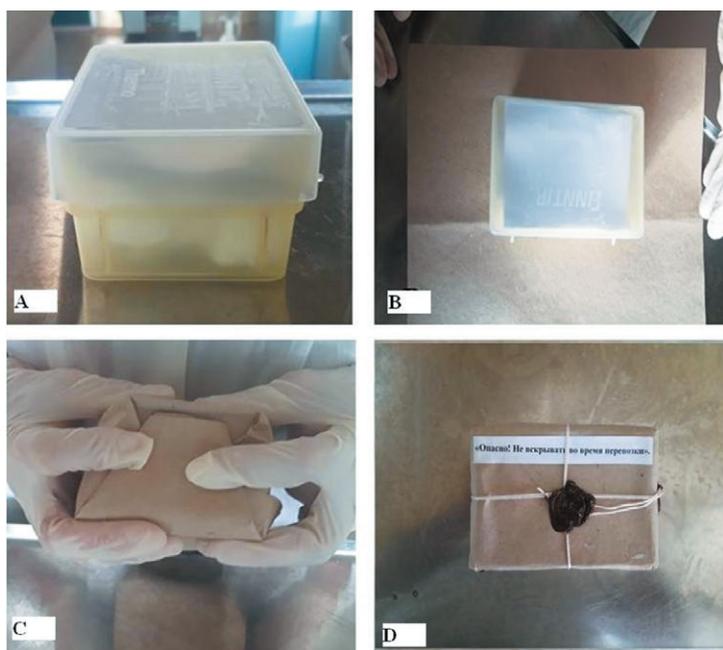


Рис. 3. Этапы упаковки пенала с ампулой производственного штамма 5584 *B. mallei*

Fig. 3. Packing a container with a vial with *B. mallei* production strain 5584

ной культурой была обернута гигроскопической ватой, помещена в пенал, вложены первые экземпляры перечисленных документов (рис. 2А, В).

Пенал герметично закрыли крышкой, обернули бумагой, ошнуровали и опечатали сургучной печатью с обозначением особыми знаками «Осторожно! Не вскрывать во время перевозки!» (рис. 3А, В, С, Д).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ данных, полученных при передаче штамма 5584 *B. mallei* из лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК», позволил дать оценку действий на всех этапах проведенной работы, при выполнении которой руководствовались требованиями правил СП 1.2.036-95 и СП 1.3.-17. Результаты изучения жизнеспособности производственного штамма 5584 и его основных свойств показали, что в лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов учреждения созданы оптимальные условия для сохранения его жизнеспособности и исходных биологических свойств по истечении 5 лет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мельникова Л. А., Букова Н. К., Макаев Х. Н., Иванова С. В., Мустафина Э. Н., Савкова М. Г. Сап: особоопасное инфекционное заболевание, его характеристика, эпизоотология и диагностика. *Ветеринарный врач*. 2016; 4: 22–25. eLIBRARY ID: 26492766.
2. Иванов А. В., Мельникова Л. А., Букова Н. К., Макаев Х. Н., Иванова С. В., Чернов А. Н. и др. Биологические свойства и стандартизация производственного штамма 5584/24-8^x *Burkholderia mallei*. *Ветеринарный врач*. 2014; 1: 21–24. eLIBRARY ID: 21256563.
3. Онищенко Г. Г., Кутырев В. В., Топорков А. В., Осин А. В. Современное состояние коллекционной деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010; 1 (103): 5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-1(103)-5-10.
4. Гришкина Т. А., Тимофеева Е. В., Спиридонов В. А. Оценка результатов хранения музейных штаммов возбудителя сапа в течение длительного периода. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2004; 1 (87): 40–42. eLIBRARY ID: 9269679.
5. Костюкова Т. А., Смоленский В. Ю., Ляпин М. Н. Разработка инструкторно-методической базы учреждения как элемента обеспечения биобезопасности работ с патогенными биологическими агентами. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2014; 3: 25–29. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-3-25-29.
6. Камалов И. Г., Константинов А. В., Диев В. И. О депонировании штаммов микроорганизмов в коллекцию ФГБУ «ВНИИЗЖ». *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2013; 11: 111–116. eLIBRARY ID: 21056921.
7. Дятлов И. А. Коллекции патогенных микроорганизмов – значение и проблемы. *Бактериология*. 2018; 3 (1): 5–6. eLIBRARY ID: 35598142.
8. Онищенко Г. Г., Кутырев В. В., Осин А. В. Коллекционная деятельность в области использования патогенных микроорганизмов в обеспечении

биологической безопасности Российской Федерации. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2016; 1 (14): 37–46. eLIBRARY ID: 25736102.

9. Онищенко Г. Г., Кутырев В. В., Топорков А. В., Осин А. В. Современное состояние коллекционной деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010; 1 (103): 5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-1(103)-5-10.

10. Лабораторная диагностика сапа. Методические указания МУ 4.2.2831-11. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2011. 22 с. Режим доступа: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4855.

REFERENCES

1. Melnikova L. A., Bukova N. K., Makaev Kh. N., Ivanova S. V., Mustafina I. N., Savkova M. G. Glanders – particularly dangerous disease: characterization, epizootology, and detection. *Veterinarian*. 2016; 4: 22–25. eLIBRARY ID: 26492766. (in Russian)
2. Ivanov A. V., Melnikova L. A., Bukova N. K., Makaev Kh. N., Ivanova S. V., Chernov A. N., et al. Standardization of 5584/24-8^x *Burkholderia mallei* field strain. *Veterinarian*. 2014; 1: 21–24. eLIBRARY ID: 21256563. (in Russian)
3. Onishchenko G. G., Kutyrev V. V., Toporkov A. V., Ossin A. V. Current state of collection activity relative to the use of infectious agents of I–II pathogenicity groups. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2010; 1 (103): 5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-1(103)-5-10. (in Russian)
4. Grishkina T. A., Timofeyeva E. V., Spiridonov V. A. Assessment of the effects of long storage on glanders pathogen museum collection stains. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2004; 1 (87): 40–42. eLIBRARY ID: 9269679. (in Russian)
5. Kostyukova T. A., Smolensky V. Yu., Lyapin M. N. Development of instruction and methodical data basis of the institution as an element of biosafety provision as regards works with pathogenic biological agents. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2014; 3: 25–29. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-3-25-29. (in Russian)
6. Kamalov I. G., Konstantinov A. V., Diev V. I. About depositing of microorganism strains into the collection of the FGBI "ARRIAH". *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2013; 11: 111–116. eLIBRARY ID: 21056921. (in Russian)
7. Dyatlov I. A. Problems of pathogenic microorganisms collections. *Bacteriology*. 2018; 3 (1): 5–6. eLIBRARY ID: 35598142. (in Russian)
8. Onishchenko G. G., Kutyrev V. V., Osin A. V. Collection activities in the sphere of pathogenic microorganisms usage for the provision of biological safety in the Russian Federation. *Infectious diseases: News, Opinions, Training*. 2016; 1 (14): 37–46. eLIBRARY ID: 25736102. (in Russian)
9. Onishchenko G. G., Kutyrev V. V., Toporkov A. V., Osin A. V. Current state of collection activity relative to the use of infectious agents of I–II pathogenicity groups. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2010; 1 (103): 5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-1(103)-5-10. (in Russian)
10. Laboratory for glanders diagnostics. Methodological Guidelines MG 4.2.2831-11 [Laboratory diagnostic sape. Metodicheskie ukazaniya MU 4.2.2831-11]. M.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosspotrebnadzor; 2011. 22 p. Available at: https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=4855. (in Russian)

Поступила 29.04.2021

Принята в печать 24.06.2021

Received on 29.04.2021

Approved for publication on 24.06.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Артемьева Елена Александровна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Мельникова Лилия Арсентьевна, кандидат ветеринарных наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Родионов Александр Павлович, младший научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Elena A. Artemeva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.

Lilia A. Melnikova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.

Alexander P. Rodionov, Junior Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.



Репаративный гистогенез костной ткани при переломах бедренной кости у крыс при использовании биокомпозиционного материала на фоне иммунокоррекции

В. В. Решетняк¹, В. В. Бурдейный², В. В. Пронин³, Е. А. Искалиев⁴

^{1,2} ФГБОУ ВО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия» (ФГБОУ ВО «Костромская ГСХА»), пос. Караваяво, Костромская обл., Россия

³ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

⁴ Ветеринарная клиника «АйБолит», г. Кострома, Россия

¹ e-mail: resh_vv76@mail.ru

² e-mail: van@ksaa.edu.ru

³ ORCID 0000-0002-6240-3062, e-mail: pronin@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Проведено изучение влияния биокомпозиционного материала РВИ из группы остеопластических биокомпозиционных материалов, иммуномодулятора РВ-2 – синтетического дипептида, обладающего иммунокорректирующим действием, и комбинаций этих препаратов на репаративный гистогенез костной ткани при переломах бедренной кости у крыс. Установлено, что ремоделирование первичной костной мозоли во вторичную в области перелома у исследуемых животных носило разноплановый характер. Наиболее выражено данный процесс протекал в группе с комплексным использованием компонентов, когда костный дефект во время операции заполняли препаратом РВИ и внутримышечно в течение пяти дней, начиная сразу после операции, инъецировали РВ-2 в дозе 10 мкг на 1 кг живой массы крыс. У животных этой группы регистрировали картину хорошо сформированной грубоволокнистой соединительнотканной мозоли. Соединительная ткань была окрашена более интенсивно, что свидетельствует о более плотном расположении волокон в костной мозоли. В ее толще отмечено наличие очагово расположенной хрящевой ткани, которая коммутировала между собой костные отломки. На периферии хрящевая мозоль подвергалась энхондральной оссификации с замещением грубоволокнистыми костными трабекулами с элементами появления пластинчатой костной ткани с гаверсовыми каналами в центре. В толще формирующейся костной ткани межбалочные пространства заполнены элементами миелоидного костного мозга. В камбиальном слое надкостницы видна выраженная пролиферация остеобластов. Доля костной ткани увеличена до $(60,21 \pm 2,62)\%$, что достоверно превышает аналогичный показатель как в контрольной, так и во всех опытных группах. Низкое содержание соединительной ткани и высокая доля костной ткани свидетельствуют о более активно протекающих процессах остеогенеза и репаративной регенерации в сравнении с другими группами.

Ключевые слова: крысы, иммуномодулятор, биокомпозиционный материал, костная мозоль, костная, хрящевая и соединительная ткани, хондроциты

Для цитирования: Решетняк В. В., Бурдейный В. В., Пронин В. В., Искалиев Е. А. Репаративный гистогенез костной ткани при переломах бедренной кости у крыс при использовании биокомпозиционного материала на фоне иммунокоррекции. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 248–253. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-248-253.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Решетняк Владимир Вячеславович, кандидат ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства ФГБОУ ВО «Костромская ГСХА», 156530, Россия, Костромская область, Костромской район, пос. Караваяво, e-mail: resh_vv76@mail.ru.

Reparative histogenesis of bone tissue in femoral fractures in rats using biocomposite material along with immunocorrection

V. V. Reshetnyak¹, V. V. Burdeyniy², V. V. Pronin³, Ye. A. Iskaliev⁴

^{1,2} FSBEI HE “Kostroma State Agricultural Academy” (FSBEI HE Kostroma SAA), Karavaevo, Kostroma Oblast, Russia

³ FGBI “Federal Center for Animal Health” (FGBI “ARRIAH”), Vladimir, Russia

⁴ Veterinary Clinic “AiBolit”, Kostroma, Russia

¹ e-mail: resh_vv76@mail.ru

² e-mail: van@ksaa.edu.ru

³ ORCID 0000-0002-6240-3062, e-mail: pronin@arriah.ru

SUMMARY

The paper studies the effect of the RVI biocomposite material belonging to the group of osteoplastic biocomposite materials, the RV-2 immunomodulator – a synthetic dipeptide inducing an immunocorrective effect, and combinations of these drugs on the reparative histogenesis of bone tissue in femoral fractures in rats. It was found that the remodeling of the primary bone callus into the secondary one in the fracture of the studied animals was of a diverse nature. This process was the most pronounced in the group where the components were used in complex, i.e. the bone defect was filled with RVI during the surgery, as well as RV-2 was injected intramuscularly to rats at a dose of 10 mcg per 1 kg of live weight for five days, starting immediately after the surgery. Well-formed coarse-fibrous connective tissue callus was recorded in animals of this group. The connective tissue was stained more intensely which indicates a denser arrangement of fibers in the callus. Focal cartilage tissue spanning bone fragments was observed within the callus. At the periphery of the site the cartilaginous callus was subjected to endochondral ossification with replacement by coarse-fibrous trabeculae with elements of lamellar bone tissue having haversian canals in the center. The inter-girdle spaces were filled with elements of the myeloid bone marrow in the forming bone tissue. Markedly proliferated osteoblasts were visible in the cambial layer of the periosteum. The bone tissue ratio increased up to $(60.21 \pm 2.62)\%$, which significantly exceeded the same indicator in the control group and in all experimental groups. The low content of connective tissue and the high ratio of bone tissue indicated more active osteogenesis processes and reparative regeneration in comparison with other groups.

Keywords: rats, immunomodulator, biocomposite material, bone callus, bone, cartilage and connective tissues, chondrocytes

For citation: Reshetnyak V. V., Burdeyniy V. V., Pronin V. V., Iskaliev E. A. Reparative histogenesis of bone tissue in femoral fractures in rats using biocomposite material along with immunocorrection. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 248–253. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-248-253.

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

For correspondence: Vladimir V. Reshetnyak, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Internal Non-Infectious Diseases, Surgery and Obstetrics, FSBEI HE Kostroma SAA, 156530, Russia, Kostroma Oblast, Kostroma Raion, Karavaevo, e-mail: resh_vv76@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Неуклонный рост интенсивности жизненного процесса в связи с бурным развитием технического прогресса неизбежно приводит к увеличению числа и тяжести травматических повреждений скелета [1]. В структуре незаразных болезней на их долю приходится до 52,1% случаев. При этом у животных чаще всего регистрируют механические травмы (в пределах 32,7–44,5%), зачастую осложненные переломами трубчатых костей [2, 3].

Многие морфологические аспекты заживления переломов кости еще недостаточно изучены. Так, остаются открытыми вопросы о механизмах торможения роста, созревания и ремоделирования костной мозоли, взаимоотношениях между воспалением, регенерацией и фиброзом при замедленном заживлении и несрастающихся переломах. Традиционные средства и методы лечения при данной патологии не всегда предупреждают развитие различных осложнений [4]. В связи с этим оправдана необходимость дальнейшего изучения механизмов заживления переломов костей, поиска новых материалов и способов лечения, направленных на активизацию репаративных процессов при заживлении [5].

В настоящее время в практике как гуманитарной, так и ветеринарной хирургии и ортопедии для коррекции остеогенеза разработано и применяется большое количество лекарственных препаратов и биологически активных веществ. Перспективным направлением в этом отношении является использование биокомпозиционных материалов и препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием. Большинство публикаций отражают результаты медицинских исследований, в то время как научные данные в области ветеринарии ограничены отдельными сообщениями [2, 5–8]. Во всех случаях авторы приводят сведения об эффективности

раздельного применения препаратов, в то же время возможность их комбинированного использования представляет как научный, так и практический интерес.

Учитывая вышеизложенное, целью исследований явилось изучение влияния биокомпозиционного материала РВИ, иммуномодулятора РВ-2 и их комбинаций на репаративный гистогенез костной ткани при переломах бедренной кости у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на кафедре внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства и клинико-диагностического центра ФГБОУ ВО «Костромская ГСХА» (г. Кострома), гистологические исследования – на базе центра доклинических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир).

Объектом исследования послужили 30 беспородных белых крыс 5–6-месячного возраста массой 200–250 г, которых содержали в виварии в одинаковых условиях на стандартном пищевом рационе в соответствии с международной нормативной документацией (европейской Директивой 2010/63/ЕС по защите животных, используемых в научных целях, и межгосударственным стандартом ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур»).

В качестве материала для изучения использовали два препарата: РВИ – из группы остеопластических биокомпозиционных материалов в виде гранул, представляющий собой синтетический гидроксиапатит с добавлением коллагена и антибиотика (ООО «Интермедатит», Россия) и РВ-2 – синтетический дипептид, являющийся аналогом активного центра одного из нативных гормонов тимуса, обладающий иммуномодулирующим действием, стимулирующий процессы

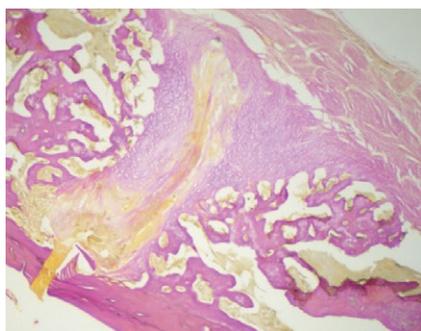


Рис. 1. Формирование костной мозоли, контрольная группа (окр. по Ван Гизону, ув. $\times 40$)

Fig. 1. Bone callus formation, control group (Van Gieson staining, magnification 40 \times)

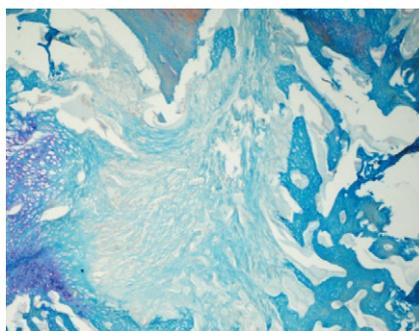


Рис. 2. Формирование островков хрящевой ткани, контрольная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 40$)

Fig. 2. Formation of cartilage islets, control group (Mallory staining, magnification 40 \times)

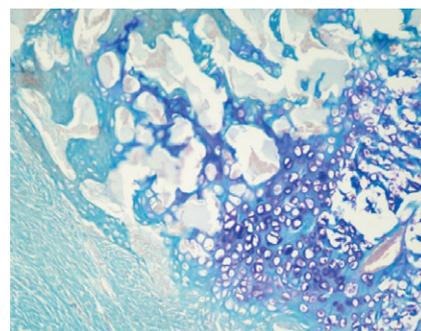


Рис. 3. Формирование костных трабекул, контрольная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 100$)

Fig. 3. Formation of bone trabeculae, control group (Mallory staining, magnification 100 \times)

Таблица

Морфометрические показатели структур в области формирования костной мозоли у крыс контрольной и опытных групп, % ($n = 5$)

Table

Morphometric parameters of structures in the area of bone callus formation in rats of the control and experimental groups, % ($n = 5$)

Номер группы	Костная ткань	Хрящевая ткань	Соединительная ткань
контроль	55,31 \pm 2,80	14,43 \pm 1,26	30,35 \pm 2,46
опыт 1	42,43 \pm 3,62*	15,77 \pm 1,41	41,91 \pm 3,67*
опыт 2	44,60 \pm 2,96*	16,51 \pm 1,54	38,94 \pm 2,92*
опыт 3	40,64 \pm 3,38*	23,06 \pm 1,87*	36,45 \pm 2,87*
опыт 4	60,21 \pm 2,62*	23,58 \pm 1,93*	16,37 \pm 1,33*
опыт 5	33,11 \pm 2,14*	18,42 \pm 1,76*	48,52 \pm 3,28*

* $P \leq 0,05$ в сравнении с контролем ($P < 0.05$ as compared to the control group).

регенерации при их нарушениях (ООО «Компания Деко», Россия).

Все животные были распределены на шесть групп ($n = 5$ в каждой): одну контрольную и пять опытных. В условиях операционной с адекватным обезболиванием у животных моделировали простой диафизарный перелом бедренной кости, после чего с целью фиксации костных обломков осуществляли интраградный остеосинтез.

В контрольной группе дополнительные лечебные мероприятия не проводили. Крысам в 1-й опытной группе в момент репозиции между концами по линии перелома костный дефект рыхло на 2/3 заполняли препаратом РВИ в виде гранул, предварительно увлажненных изотоническим раствором хлорида натрия; во 2-й и 3-й – пятидневным курсом один раз в день внутримышечно инъецировали препарат РВ-2 в дозе 10 мкг на 1 кг живой массы сразу после операции (2-я группа) или начиная с пятых суток (3-я группа) после оперативного вмешательства. В остальных двух использовали оба препарата: в 4-й – по схемам групп 1 и 2, в 5-й – по схемам опытных групп 1 и 3.

Животных из эксперимента выводили на 45-е сутки после операции путем эвтаназии диоксидом углерода. Бедренные кости, на которых проводили оперативное

вмешательство, отбирали целиком, фиксировали их в 10%-м растворе нейтрального формалина, а затем острым скальпелем (ножницами, щипцами) с дорсальной и вентральной сторон отделяли костную мозоль (место сращения), удаляя при этом также штифт.

В работе использовали декальцинирующую жидкость и гистологическое оборудование производства фирмы ООО «Креоника» (Россия).

После декальцинации осуществляли проводку биоматериала в гистопротекторе TLP-720 и заливку в парафин на заливочной станции ESD-2800. Срезы толщиной 5–8 мкм готовили на ротационном полуавтоматическом микротоме RMD-3000. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином в автоматическом линейном стейнере ALS-96 с дополнительным окрашиванием по Маллори и по методу Ван Гизона для выявления соединительной ткани.

Препараты исследовали с помощью микроскопа МИКМЕД-6 (ЛОМО, Россия). Измерение и фотодокументирование осуществляли видеокамерой E315 PM с использованием программного обеспечения TourView (Hangzhou TourTek Photonics Co., Ltd, Китай). Калибровку измерительной шкалы видеокамеры проводили с помощью объект-микрометра проходящего света ОМП (ЛОМО, Россия).

На пяти полях зрения каждого из пяти препаратов из всех групп определяли соотношение тканевых компонентов (костной, хрящевой и соединительной) в зоне примыкания отломков кости.

Результаты измерений обрабатывали вариационно-статистическим методом с использованием программы Statistica 7.0 на персональном компьютере с вычислением средних величин (M) и ошибки (m). Различия считали достоверными в пределах значений $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При гистологическом исследовании установлено, что у животных в контрольной группе в области контакта отломков костей сформирована костная мозоль, представленная оформленной грубоволокнистой соединительной тканью (рис. 1). В ее толще отмечены островки хрящевой ткани с хорошо различимыми единично расположенными хондроцитами, а также изогенные группы клеток (рис. 2). На границе контакта костных отломков обнаружены хаотично ориентированные костные пластинки с большим количеством фибробластов на

их поверхности. В глубине вновь образованных костных трабекул регистрировали большое количество остеобластов, периостальная поверхность которых представлена достаточно плотно расположенными волокнами соединительной ткани, интенсивно окрашенными по Маллори (рис. 3). Соотношение костной, хрящевой и соединительной тканей составляло $55,31 \pm 2,80$; $14,43 \pm 1,26$; $30,35 \pm 2,46\%$ соответственно (табл.).

В то же время, костная мозоль у крыс в 1-й опытной группе, по сравнению с контролем, отличалась менее выраженной морфологической структурой (рис. 4). Интермедиарная зона состояла из пучков крупноячейистой губчатой костной ткани. Костномозговая полость

в зоне сращения заполнена миелоидным костным мозгом с артериями разного калибра (рис. 5). Кроме того, в этой группе установлено менее интенсивное формирование молодых костных пластинок, а доля костной ткани в месте дефекта была достоверно ниже и составляла $42,43 \pm 3,62\%$ при отсутствии достоверных отличий в содержании хрящевой ткани между группами. Наряду с этим доля соединительной ткани увеличилась до $41,91 \pm 3,67\%$ ($P \leq 0,05$, табл.).

Во 2-й опытной группе костная мозоль у животных представлена выраженной, плотной, оформленной волокнистой соединительной тканью. В области совмещения отломков костей регистрировали

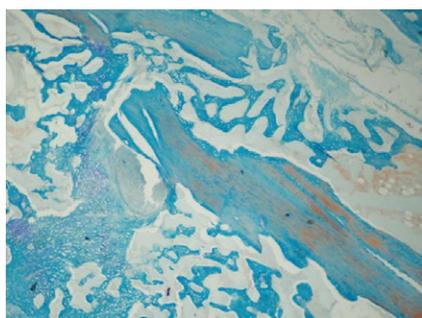


Рис. 4. Формирование костной мозоли, 1-я опытная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 40$)

Fig. 4. Forming of bone callus, Experimental Group 1 (Mallory staining, magnification $40\times$)

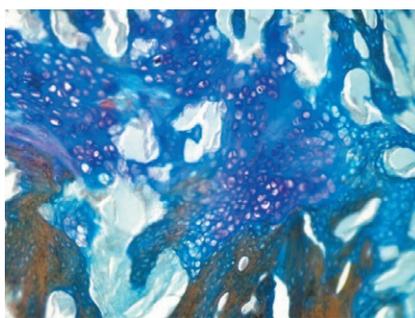


Рис. 5. Формирование костных трабекул, 1-я опытная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 100$)

Fig. 5. Formation of bone trabeculae, Experimental Group 1 (Mallory staining, magnification $100\times$)



Рис. 6. Структуры костной мозоли, 2-я опытная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 40$)

Fig. 6. Bone callus structures, Experimental Group 2 (Mallory staining, magnification $40\times$)

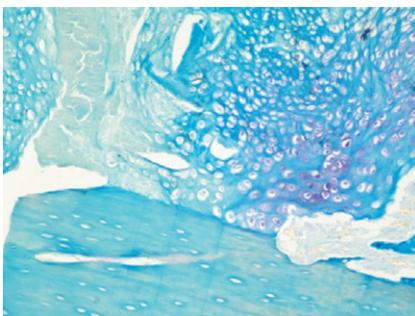


Рис. 7. Хрящевая ткань костной мозоли, 2-я опытная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 100$)

Fig. 7. Cartilaginous tissue of the bone callus, Experimental Group 2 (Mallory staining, magnification $100\times$)

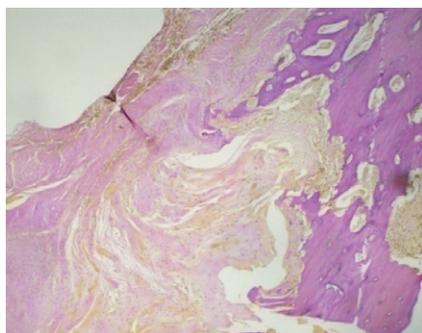


Рис. 8. Костная мозоль, 3-я опытная группа (окр. по Ван Гизону, ув. $\times 40$)

Fig. 8. Bone callus, Experimental Group 3 (Van Gieson staining, magnification $40\times$)



Рис. 9. Кость, 3-я опытная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 100$)

Fig. 9. Bone, Experimental Group 3 (Mallory staining, magnification $100\times$)

единичные беспорядочно ориентированные костные пластинки (рис. 6). Ближе к периосту визуализировалась сформированная хрящевая ткань с единичными хондроцитами (рис. 7). Удельные показатели костной и хрящевой ткани не имели достоверно значимых различий в сравнении с 1-й опытной группой. Однако по сравнению с контролем отмечали более низкую долю костной ткани на фоне более высокого показателя соединительной ($P \leq 0,05$, табл.) и незначительное увеличение хрящевой.

Морфометрические показатели структур костной мозоли у крыс в 3-й опытной группе не претерпевали достоверно значимых изменений в сравнении с 1-й и 2-й опытными группами. Следует отметить тенденцию к снижению доли костной ткани и достоверно значимые отличия в содержании хрящевой в сравнении с 1-й и 2-й опытными группами (табл.). Костная мозоль хорошо выражена, с преобладанием грубоволокнистой соединительной ткани, которая демонстрирует менее интенсивные фуксинофильные свойства при окрашивании по Ван Гизону, что свидетельствует о более рыхлом расположении волокон (рис. 8). В хрящевой мозоли хондроциты расположены редко, с преобладанием базофильного межклеточного вещества. На периферии хрящевой мозоли отмечено формирование костных пластинок, имеющих незрелый характер (рис. 9).

В 4-й опытной группе у животных регистрировали картину хорошо сформированной грубоволокнистой

соединительнотканной мозоли. Соединительная ткань окрашена более интенсивно, что свидетельствует о более плотном расположении волокон в костной мозоли. В ее толще обнаружена очагово расположенная хрящевая ткань, которая коммутировала между собой костные отломки (рис. 10). На периферии хрящевая мозоль подвергалась энхондральной оссификации с замещением грубоволокнистыми костными трабекулами с элементами появления пластинчатой костной ткани с гаверсовыми каналами в центре. В толще формирующейся костной ткани межбалочные пространства заполнены элементами миелоидного костного мозга (рис. 11). В камбиальном слое надкостницы видна выраженная пролиферация остеобластов (рис. 12). Доля костной ткани увеличена до $60,21 \pm 2,62\%$, что достоверно превышает аналогичный показатель как в контрольной, так и во всех других опытных группах (табл.). Низкое содержание соединительной ткани и высокая доля костной ткани свидетельствуют о более активно протекающих процессах остеогенеза и репаративной регенерации по сравнению с другими группами.

В 5-й опытной группе костная мозоль выражена незначительно, с периферии представлена рыхло расположенными пучками грубоволокнистой соединительной ткани с различимыми в глубине островками хрящевой (рис. 13). Область дефекта заполнена миелоидным веществом и островками слабофуксинофильной грубоволокнистой соединительной ткани (рис. 14). В периостальной

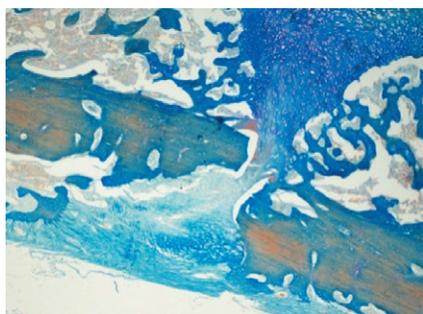


Рис. 10. Кость, 4-я опытная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 40$)

Fig. 10. Bone, Experimental Group 4 (Mallory staining, magnification $40\times$)

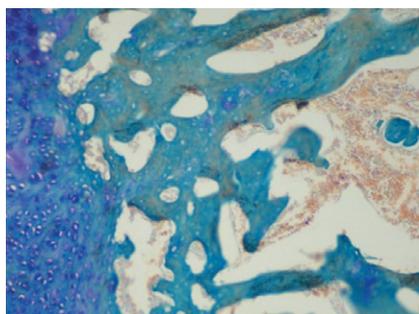


Рис. 11. Костная мозоль, 4-я опытная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 40$)

Fig. 11. Bone callus, Experimental Group 4 (Mallory staining, magnification $40\times$)

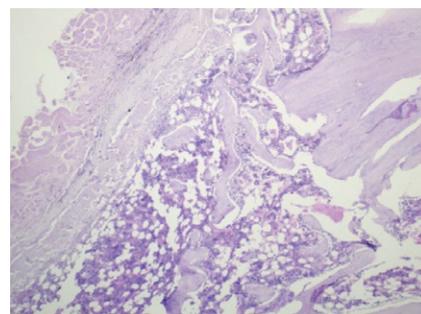


Рис. 12. Костная ткань, 4-я опытная группа (окр. гематоксилином и эозином, ув. $\times 40$)

Fig. 12. Bone tissue, Experimental Group 4 (hematoxylin and eosin staining, magnification $40\times$)

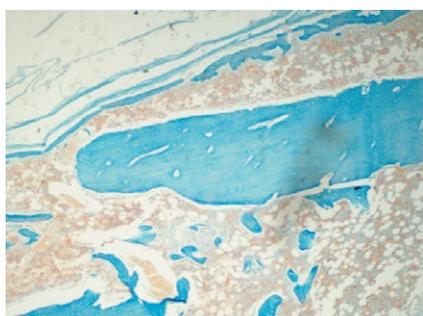


Рис. 13. Костная мозоль, 5-я опытная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 40$)

Fig. 13. Bone callus, Experimental Group 5 (Mallory staining, magnification $40\times$)

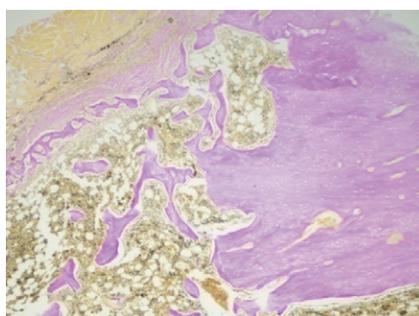


Рис. 14. Костная мозоль, 5-я опытная группа (окр. по Ван Гизону, ув. $\times 40$)

Fig. 14. Bone callus, Experimental Group 5 (Van Gieson staining, magnification $40\times$)

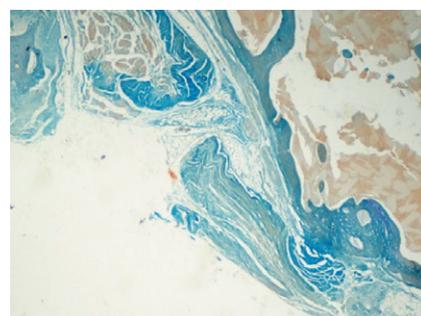


Рис. 15. Костная мозоль, (формирование костных трабекул), 5-я опытная группа (окр. по Маллори, ув. $\times 40$)

Fig. 15. Bone callus, (formation of bone trabeculae), Experimental Group 5 (Mallory staining, magnification $40\times$)

зоне визуализировались зачатки костных трабекул, образующихся путем замещения ретикулофиброзной ткани (рис. 15). Содержание объемной доли костной ткани было самое низкое ($33,11 \pm 2,14\%$) из всех представленных групп на фоне наиболее высокого показателя ($48,52 \pm 3,28\%$) доли соединительной ткани (табл.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные свидетельствуют о том, что наибольшее стимулирующее действие на репаративный остеогенез оказало совместное применение биокомпозиционного материала РВИ на основе синтетического гидроксиапатита с добавлением коллагена и антибиотика на фоне пятидневного курса иммунокоррекции препаратом РВ-2 из группы синтетических дипептидов, начатого с первого дня после операции. Это подтверждается более высокой долей костной ткани и низким содержанием соединительной в местах совмещения отломков, активно протекающими процессами оссификации и появлением элементов пластинчатой костной ткани.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Марченкова Л. О., Горбач Е. Н., Кононович Н. А., Степанов М. А. Заживление оскольчатых переломов костей голени при использовании комплекса минералов «Мицеллат» (экспериментальное исследование). *Гений ортопедии*. 2017; 23 (3): 292–296. DOI: 10.18019/1028-4427-2017-23-3-292-296.
2. Бочкарев В. В., Виденин В. Н., Дружинина Т. В. Применение материала для замещения костной ткани на основе гидроксиапатита при оперативном лечении собак «карликовых» пород с переломами костей предплечья. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. 2015; 3: 118–121. eLIBRARY ID: 24283115.
3. Деревянченко В. В. Клинико-морфологическое обоснование эффективности применения в травматологии остеофиксаторов из наномодифицированного диоксида титана: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Саратов; 2015. 22 с. Режим доступа: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01005560511#?page=1>.
4. Берченко Г. Н. Биология заживления переломов кости и влияние биокомпозиционного наноструктурированного материала КОЛЛАПАН на активизацию репаративного остеогенеза. *Медицинский алфавит*. 2011; 1 (2): 14–19. eLIBRARY ID: 17392726.
5. Стекольников А. А., Решетняк В. В., Бурдейный В. В., Искалиев Е. А. Динамика белой крови при переломах бедренной кости у крыс на фоне применения иммуномодулятора РВ-2 и биокомпозиционного материала РВИ. *Международный вестник ветеринарии*. 2019; 4: 147–152. eLIBRARY ID: 41559298.
6. Берченко Г. Н., Кесян Г. А., Уразгильдеев Р. З., Арсеньев И. Г., Микелашвили Д. С., Болбут М. В. Сравнительное экспериментально-морфологическое исследование влияния некоторых используемых в травматолого-ортопедической практике кальций-фосфатных материалов на активизацию репаративного остеогенеза. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2006; 4 (50): 327–332. eLIBRARY ID: 13026681.
7. Миханов В. А., Полякова В. С., Копылов В. А., Мхитарян Е. Е., Мещеряков К. Н., Бакаева Н. Р., Шурыгина Е. И. Репаративный гистогенез костной ткани в условиях открытого перелома диафиза длинной трубчатой кости у крыс при использовании препарата «Винфар». *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 3. eLIBRARY ID: 23703590. Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19689>.
8. Сахно Н. В. Оптимизация репаративного остеогенеза при костных травмах у мелких домашних животных: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. М.; 2012. 47 с. Режим доступа: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01005009913#?page=1>.

REFERENCES

1. Marchenkova L. O., Gorbach E. N., Kononovich N. A., Stepanov M. A. Comminuted tibial fracture healing by the use of the mineral complex micellate (experimental study). *Genij Ortopedii*. 2017; 23 (3): 292–296. DOI: 10.18019/1028-4427-2017-23-3-292-296.
2. Bochkarev V. V., Videnin V. N., Druzhinina T. V. Application of material on the basis of hydroxyapatite for bone tissue replacement in surgery of toy breed dogs with fractures of the antebachium bones. *Issues of Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2015; 3: 118–121. eLIBRARY ID: 24283115. (in Russian)
3. Derevyanchenko V. V. Clinical and morphological substantiation of the effectiveness of the use of osteofixers made of nano-modified titanium dioxide in traumatology [Kliniko-morfologicheskoe obosnovanie effektivnosti primeneniya v travmatologii osteofiksatorov iz nanomodifitsirovanogo dioksida titana]: author's abstract of Candidate of Science thesis (Veterinary Medicine). Saratov; 2015. 22 p. Available at: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01005560511#?page=1>. (in Russian)
4. Berchenko G. N. The biology of fracture healing and influence biocomposite nanostructured material COLLAPAN on activation of repair of bone fractures. *Medical alphabet*. 2011; 1 (2): 14–19. eLIBRARY ID: 17392726. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_17392726_50033852.pdf. (in Russian)
5. Stekolnikov A. A., Reshetnyak V. V., Burdeyniy V. V., Iskaliyev E. A. Dynamics of white blood under femoral bone fractures in rats on the background of application of RV-2 immunomodulator and RVI bio-compositional material. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2019; 4: 147–152. eLIBRARY ID: 41559298. (in Russian)
6. Berchenko G. N., Kesyan G. A., Urazgil'deyev R. Z., Arsen'ev I. G., Mikelashvili D. S., Bolbut M. V. Comparative experimental-morphologic study of the influence of calcium-phosphate materials on reparative osteogenesis activation in traumatology and orthopedics. *Acta Biomedica Scientifica*. 2006; 4 (50): 327–332. eLIBRARY ID: 13026681. (in Russian)
7. Mikhanov V. A., Polyakova V. S., Kopylov V. A., Mkhitarjan E. E., Meshcheryakov K. N., Bakaeva N. R., Shurygina E. I. Reparative histogenesis of one tissue in an open shaft fractures of long bones in rats with preparations "Vinfar". *Modern Problems of Science and Education*. 2015; 3. eLIBRARY ID: 23703590. Available at: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=19689>. (in Russian)
8. Sakhno N. V. Optimization of reparative osteogenesis in bone trauma of pets [Optimizatsiya reparatornogo osteogenez pri kostnykh travmah u melkih domashnih zhivotnyh]: author's abstract of Doctor of Science thesis (Veterinary Medicine). M.; 2012. 47 p. Available at: <https://dlib.rsl.ru/viewer/01005009913#?page=1>. (in Russian)

Поступила 29.03.2021

Принята в печать 19.05.2021

Received on 29.03.2021

Approved for publication on 19.05.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Решетняк Владимир Вячеславович, кандидат ветеринарных наук, доцент, заведующий кафедрой внутренних незаразных болезней, хирургии и акушерства ФГБОУ ВО «Костромская ГСХА», г. Кострома, Россия.

Бурдейный Василий Владимирович, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры эпизоотологии, паразитологии и микробиологии ФГБОУ ВО «Костромская ГСХА», г. Кострома, Россия.

Пронин Валерий Васильевич, доктор биологических наук, профессор, руководитель центра доклинических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Искалиев Евгений Айдарханович, главный врач ветеринарной клиники «АйБолит», г. Кострома, Россия.

Vladimir V. Reshetnyak, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Head of Department of Internal Non-Infectious Diseases, FSBEI HE Kostroma SAA, Karavaevo, Kostroma Oblast, Russia.

Vasily V. Burdeyniy, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Department of Epizootology, Parasitology and Microbiology, FSBEI HE Kostroma SAA, Karavaevo, Kostroma Oblast, Russia.

Valery V. Pronin, Doctor of Science (Biology), Professor, Head of the Centre for Preclinical Tests FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Evgeniy A. Iskaliyev, Chief Veterinary Practitioner, Veterinary Clinic "AiBolit", Kostroma, Russia.



Анализ организации ветеринарно-санитарной экспертизы в субъектах Российской Федерации

А. М. Селянин¹, М. А. Шибяев², А. В. Бельчихина³, А. К. Караулов⁴

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

¹ ORCID 0000-0003-1200-4597, e-mail: selyanin@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-9382-0109, e-mail: shibaev@arriah.ru

³ ORCID 0000-0003-1442-2469, e-mail: belchikhina@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-5731-5762, e-mail: karaulov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В статье представлен анализ наиболее важных показателей, характеризующих организацию системы обеспечения безопасности пищевых продуктов в Российской Федерации по состоянию на 1 января 2020 г. В частности, рассмотрены вопросы компетентности ветеринарных специалистов и лабораторий ветеринарно-санитарной экспертизы, обеспеченность лабораторий необходимым оборудованием, в том числе и радиометрическим, проведена оценка реализации процедуры внутреннего аудита лабораторий ветеринарно-санитарной экспертизы. Представлены данные об обеспеченности субъектов Российской Федерации убойными и убойно-санитарными пунктами/площадками, а также их укомплектованность ветеринарными специалистами. Результаты исследования свидетельствуют о том, что 39% лабораторий ветеринарно-санитарной экспертизы не укомплектованы необходимым лабораторным оборудованием, 8% лабораторий применяли для проведения исследований неуполномоченное лабораторное оборудование и только 2/3 лабораторий были охвачены периодическими внутренними аудитами. Выявлены факты недостаточного контроля за аттестацией ветеринарных специалистов, осуществляющих ветеринарно-санитарную экспертизу. Кроме того, отмечена недостаточная обеспеченность регионов страны местами убоя животных и лабораториями ветеринарно-санитарной экспертизы, а также неполная укомплектованность их ветеринарными специалистами, в задачи которых входит проведение государственного надзора за соблюдением требований ветеринарных правил и технических регламентов, проведение ветсанэкспертизы. Таким образом, в некоторых регионах страны у государственной ветеринарной службы отсутствует возможность убоя больных и подозреваемых в заболевании животных в изолированных контролируемых условиях с последующим хранением и обеззараживанием продуктов убоя, или их утилизацией, или уничтожением на месте. Полученные результаты исследования показывают наличие ряда пробелов в организации системы ветеринарно-санитарной экспертизы, что свидетельствует о необходимости введения корректирующих мер как на федеральном, так и на региональном уровне.

Ключевые слова: безопасность пищевой продукции, лаборатория ветеринарно-санитарной экспертизы, ветеринарные специалисты, места убоя животных

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

Для цитирования: Селянин А. М., Шибяев М. А., Бельчихина А. В., Караулов А. К. Анализ организации ветеринарно-санитарной экспертизы в субъектах Российской Федерации. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 254–260. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-254-260.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Селянин Аркадий Михайлович, ведущий ветеринарный врач информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: selyanin@arriah.ru.

Analysis of Veterinary and Sanitary Inspection in Russian Federation Subjects

A. M. Selyanin¹, M. A. Shibayev², A. V. Belchikhina³, A. K. Karaulov⁴

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

¹ ORCID 0000-0003-1200-4597, e-mail: selyanin@arriah.ru

² ORCID 0000-0002-9382-0109, e-mail: shibaev@arriah.ru

³ ORCID 0000-0003-1442-2469, e-mail: belchikhina@arriah.ru

⁴ ORCID 0000-0002-5731-5762, e-mail: karaulov@arriah.ru

SUMMARY

The paper represents the analysis of the key parameters specifying the food safety system in the Russian Federation as of January 1, 2020. Such issues as competence of the veterinary experts and laboratories in the field of veterinary and sanitary inspection as well as availability of the necessary equipment including equipment for radiometric tests were particularly considered. Implementation of the internal audit procedure by the veterinary and sanitary testing laboratories was assessed. Data

on the availability of the slaughterhouses and slaughter units/facilities for emergency slaughter as well as their staffing with the veterinarians are demonstrated. The study results indicate that 39% of the laboratories are not equipped with the necessary laboratory equipment; 8% of the laboratories perform tests using non-calibrated laboratory equipment, and only 2/3 of the laboratories are covered by the regular internal audits. Evidence of insufficient control over the attestation of the veterinarians involved in the veterinary and sanitary expertise was identified. Moreover, insufficient number of slaughter facilities and veterinary and sanitary testing laboratories in the regions of the country was highlighted as well as inadequate staffing of the laboratories with the veterinarians responsible for the official control of the compliance with the veterinary rules and technical regulations and for the veterinary and sanitary inspections. Therefore, in some regions of the country the national veterinary services lack any capacities necessary to perform the emergency slaughter of the diseased and suspect animals in the isolated and controlled environment with the subsequent on-site storage and decontamination of the slaughter products or their disposal or destruction. The study results demonstrate a number of gaps in the veterinary and sanitary inspection system thus indicating the need for corrective actions to be taken both on the federal and local levels.

Keywords: food safety, veterinary and sanitary testing laboratory, veterinarians, slaughter facilities

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

For citation: Selyanin A. M., Shibayev M. A., Belchikhina A. V., Karaulov A. K. Analysis of veterinary and sanitary inspection in Russian Federation Subjects. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 254–260. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-254-260.

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

For correspondence: Arkady M. Selyanin, Leading Veterinarian, Information and Analysis Centre, FGBl "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: selyanin@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Безопасность пищевой продукции – это состояние пищевой продукции, свидетельствующее об отсутствии недопустимого риска, связанного с вредным воздействием на человека и будущие поколения. Вредное воздействие на человека оказывают факторы, связанные с наличием в пищевой продукции загрязняющих веществ (контаминантов): радионуклидов, токсинов, болезнетворных микроорганизмов, создающих угрозу жизни или здоровью человека [1]. По мнению Всемирной организации здравоохранения, безопасность продуктов питания должна стать приоритетным вопросом общественного здравоохранения [2].

Безопасность пищевых продуктов животного и растительного происхождения невозможно обеспечить без организации на соответствующем уровне системы ветеринарно-санитарной экспертизы (ВСЭ), основу которой составляют ветеринарные специалисты и лаборатории ветеринарно-санитарной экспертизы, оснащенные необходимым оборудованием.

Оценка организации и эффективности системы ВСЭ в стране является частью оценки организации ветеринарной службы государства, проводимой в рамках международной торговли, а также в рамках регионализации [3, 4].

В настоящее время официальная и доступная информация о состоянии и оценке системы ветеринарно-санитарной экспертизы в Российской Федерации отсутствует, поэтому невозможно объективно отразить сложившуюся в субъектах страны реальную картину.

В связи с этим целью работы был сбор информации по наиболее значимым показателям (обеспеченность регионов убойными и убойно-санитарными пунктами/площадками, укомплектованность ветеринарными специалистами, материально-техническая оснащенность лабораторий ветеринарно-санитарной экспертизы и др.) и проведение комплексной аналитической оценки состояния системы ВСЭ в субъектах Российской Федерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Практической основой для анализа обеспечения государственной ветеринарной службой РФ ветеринарно-санитарной безопасности пищевых продуктов послужили сведения, внесенные в систему оперативной отчетности «Ассоль.Экспресс» органами исполнительной власти субъектов страны в области ветеринарии по состоянию на 1 января 2020 г. по разработанной в ФГБУ «ВНИИЗЖ» форме для сбора первичных данных.

В исследовании использовались общепринятые методы и приемы анализа данных: обобщение и формализация информации, метод сравнительного анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Процессы обеспечения безопасности пищевых продуктов должны охватывать пищевую цепь на всем ее протяжении – от производства до потребления. Одной из мер государственного регулирования в целях обеспечения качества и безопасности продуктов питания служит принятие технических регламентов Таможенного союза, устанавливающих требования безопасности (включая санитарно-эпидемиологические, гигиенические и ветеринарные) к объектам технического регулирования, а также формы и процедуры оценки (подтверждения) соответствия объектов технического регулирования требованиям технических регламентов.

В соответствии с действующим законодательством ВСЭ является одним из вариантов подтверждения соответствия пищевой продукции требованиям технических регламентов Таможенного союза и выступает единственным и окончательным способом подтверждения соответствия и безопасности переработанной пищевой продукции животного происхождения [5].

Как видно из представленной схемы (рис. 1), безопасностью пищевых продуктов обеспечивается совокупностью различных систем, взаимодействующих между собой.

В данной работе будет рассмотрена система ВСЭ пищевых продуктов по показателям, имеющим ключевое



Рис. 1. Схема системы обеспечения безопасности пищевых продуктов

Fig. 1. Diagram of the food safety system

влияние на их безопасность и затрагивающим все этапы движения – от получения сырья до потребления человеком:

- обеспеченность субъектов РФ убойными и убойно-санитарными пунктами/площадками;
- укомплектованность ветеринарными специалистами, осуществляющими ВСЭ продуктов животного и растительного происхождения;
- обеспеченность животноводческих хозяйств специалистами ветеринарной службы;
- материально-техническая оснащенность лабораторий ВСЭ, наличие системы менеджмента качества;
- компетентность ветеринарных специалистов службы ВСЭ и наличие медицинского заключения о допуске к работе с пищевой продукцией.

Ветеринарно-санитарная экспертиза на боенских предприятиях. Производство мяса и мясопродуктов должно осуществляться с соблюдением гигиенических и ветеринарно-санитарных требований, а также с учетом риска, возникающего на всех этапах технологического процесса.

Необходимого уровня соблюдения гигиены убоя животных можно достичь путем установления должного ветеринарного обслуживания в период прижизненно-

го содержания животных, организации предубойной выдержки, предубойного ветеринарного осмотра и процесса убоя животных, а также других факторов, влияющих на качество и безопасность конечных продуктов [6]. Соблюдение предусмотренных законодательством надлежащих условий производства мяса и мясопродуктов возможно только на специализированных боенских предприятиях, находящихся под контролем государственной ветеринарной службы и прошедших процедуру государственной регистрации.

Для оценки эффективности организации ВСЭ на боенских предприятиях учитывали обеспеченность субъектов РФ убойными и убойно-санитарными пунктами/площадками, а также наличие квалифицированных ветеринарных специалистов.

В результате проведенного анализа было установлено, что только 28 субъектов РФ обеспечены местами убоя животных (убойные пункты/площадки) для нужд населения в полном объеме от потребности, в 9 регионах доступные для населения места убоя отсутствуют, в остальных субъектах сложилась разнонаправленная ситуация (рис. 2).

Обеспеченность регионов РФ убойными пунктами/площадками для нужд хозяйствующих субъектов также находится на недостаточном уровне, поскольку в полном объеме от потребности ими обеспечен только 41 субъект страны, в 2 регионах доступные для хозяйствующих субъектов места убоя не организованы, а удовлетворение потребности в них остальных субъектов колеблется от 1 до 99% (рис. 2).

Укомплектованность убойных пунктов/площадок ветеринарными специалистами, в задачи которых входит проведение государственного надзора за соблюдением требований ветеринарных правил и технических регламентов, проведение ВСЭ, отмечена в 68 субъектах РФ, в 3 субъектах ни одно место убоя не обеспечено ветеринарными специалистами, в остальных регионах данный показатель варьирует в довольно широком диапазоне – от 1 до 99%.

Обеспеченность убойно-санитарными пунктами в полном объеме отмечается лишь в 35 субъектах РФ, в 24 регионах такие пункты отсутствуют, а в остальных субъектах их наличие варьирует от 1 до 99%. Таким образом, в подавляющем большинстве регионов РФ у государственной ветеринарной службы отсутствует возможность убоя больных и подозреваемых в заболевании животных в изолированных контролируемых условиях с последующим хранением и обеззаражива-



Рис. 2. Распределение субъектов РФ по обеспеченности местами убоя животных

Fig. 2. Distribution of the RF Subjects by the availability of the slaughter facilities

нием продуктов убою, либо их утилизацией, либо уничтожением на месте.

Необходимо отметить, что должное ветеринарное обслуживание хозяйств по содержанию животных, заключающееся в полноценном и ежедневном ветеринарном контроле, определяет качество и безопасность получаемой продукции. Однако результаты проведенного анализа показывают, что более половины (51%) животноводческих хозяйств в стране, без учета личных подсобных хозяйств, не имеют собственной ветеринарной службы.

Отсутствие доступных убойных пунктов/площадок для населения и хозяйствующих субъектов приводит к бесконтрольному подворному убою без проведения ВСЭ продуктов убою животных. Кроме того, существует возможность поступления на убой животных с неопределенным ветеринарно-санитарным статусом ввиду отсутствия в животноводческих хозяйствах полноценного ветеринарного контроля в комплексе с неуккомплектованностью убойных площадок специалистами ВСЭ. Данное обстоятельство формирует высокий риск употребления человеком небезопасных в ветеринарно-санитарном отношении пищевых продуктов, а также возникает вероятность инфицирования персонала боен зооантропонозами.

Лаборатории ветеринарно-санитарной экспертизы. Как известно, ветсанэкспертизу продуктов животного происхождения проводят непосредственно на боенских предприятиях, а также в лабораториях ВСЭ, организуемых при учреждениях государственной ветеринарной службы или на предприятиях торговли, в том числе продовольственных рынках. Общая обеспеченность лабораториями ВСЭ в 40 субъектах РФ составила 100% от потребности, в 35 регионах – от 50 до 99% от необходимого количества и в 10 субъектах – до 50% от потребности (рис. 3).

Несмотря на то что обязанность по организации лабораторий ВСЭ на рынках, осуществляющих деятельность по продаже пищевых продуктов животного и/или растительного происхождения, установлена на законодательном уровне [7], на 102 из 1703 продовольственных рынков в субъектах РФ не организованы такие лаборатории, и данная ситуация сохраняется на протяжении последних нескольких лет. Указанные факты являются нарушением законодательства и способствуют возникновению угрозы появления и распространения инфекционных и инвазионных болезней, передающихся человеку от животных, поскольку безопасность пищевых продуктов, реализуемых на этих рынках, не подтверждена. Ситуация усугубляется тем, что на торговых предприятия, юридически не попадающие под регулирование вышеуказанным законодательством (например, торговые центры), не распространяется обязанность по организации лабораторий ВСЭ. Однако зачастую в подобных торговых точках осуществляется продажа пищевых продуктов непромышленного изготовления и переработанных продуктов животного происхождения, безопасность которых в ветеринарно-санитарном отношении не подтверждена по причине отсутствия лабораторий ВСЭ.

Законодательством Таможенного союза (ТС) установлено, что подтверждению соответствия требованиям технических регламентов ТС путем проведения ВСЭ подлежит как переработанная пищевая продукция животного происхождения, так и продукция непромышленного изготовления. В данном случае лаборатория ВСЭ (или

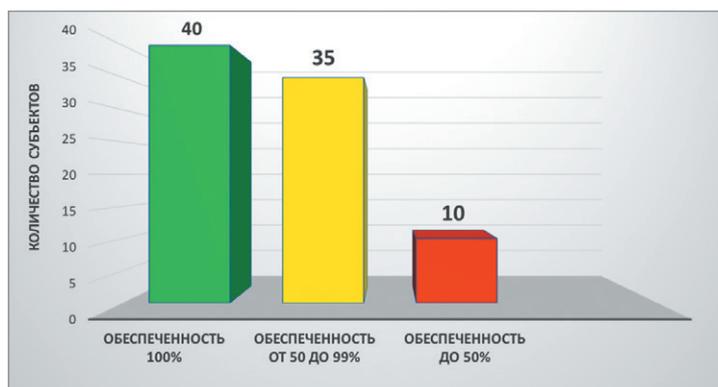


Рис. 3. Распределение субъектов РФ по обеспеченности лабораториями ветеринарно-санитарной экспертизы

Fig. 3. Distribution of the RF Subjects by the availability of the veterinary and sanitary testing laboratories

ветсанэксперт) является единственным звеном в подтверждении безопасности подконтрольной продукции в ветеринарно-санитарном отношении и фактически данные лаборатории выполняют функции испытательных лабораторий, на основании заключений которых пищевые продукты допускаются в свободную реализацию. В соответствии с действующим законодательством лаборатории ВСЭ не подлежат обязательной аккредитации, поэтому процедура подтверждения компетентности не была проведена ни для одной из лабораторий в стране.

В настоящем исследовании компетентность лабораторий ВСЭ определяли по следующим показателям:

- наличие необходимых средств измерений и их техническое состояние, проведение поверки средств измерения;
- наличие нормативно-методических документов, регламентирующих проведение испытаний;
- проведение процедуры внутреннего аудита лабораторий ВСЭ со стороны учреждений, подведомственных органу исполнительной власти в области ветеринарии.

По результатам анализа, проведенного в разрезе указанных показателей, можно заключить, что:

- 1097 из 2795 (39%) лабораторий ВСЭ не могут в полном объеме проводить обязательную ветсанэкспертизу всех пищевых продуктов (мясо, молоко, яйца, корма и т. д.), что противоречит действующему законодательству РФ [8], а в 5 субъектах ни одна лаборатория ВСЭ не имеет всего спектра необходимого лабораторного оборудования, в связи с чем доступ населения к этой предусмотренной государством услуге обеспечен не в полном объеме, что увеличивает вероятность поступления в пищевую цепь продуктов, не подвергнутых экспертизе в установленном порядке;
- в отчетном периоде (2019 г.) 247 из 2795 (9%) лабораторий ВСЭ проводили исследования на не прошедшем поверку лабораторном оборудовании, подлежащем периодической поверке, что ставит под сомнение объективность результатов измерений, полученных на данном оборудовании, и, следовательно, заключений о соответствии пищевых продуктов действующим нормативным требованиям;
- 125 из 2795 (4,5%) лабораторий ВСЭ не обеспечены в полном объеме нормативно-методическими документами по проведению ветсанэкспертизы;

– в 1763 из 2795 (63%) лабораторий ВСЭ в 29 регионах РФ внедрена и реализуется процедура внутреннего аудита, которая выражается в периодических внутренних проверках в целях оценки деятельности лабораторий и их технического состояния. Введение в практику подобных аудитов может повысить эффективность контроля за деятельностью лабораторий ВСЭ в соответствии с действующим законодательством, в том числе в части проведения исследований.

Поскольку лаборатории ВСЭ выполняют функции испытательных лабораторий и обеспечивают ветеринарно-санитарную безопасность продуктов питания для здоровья населения, все исследования должны проводиться надлежащим образом и гарантировать достоверность результатов. В испытательных лабораториях это подтверждается путем аккредитации, наличие которой является доказательством компетентности и способности получать достоверные результаты [9]. Ввиду того что процедура аккредитации лабораторий ВСЭ не регламентируется на законодательном уровне, в качестве подтверждения их компетентности необходимо перенести положительную практику и на данные лаборатории. Одним из возможных путей реализации этого может быть включение лабораторий ВСЭ в состав ветеринарных диагностических лабораторий в форме их структурной единицы, после чего на них будет распространяться область аккредитации головного учреждения. Подобная практика в настоящее время частично реализована в референтных центрах и межобластных ветеринарных лабораториях Россельхознадзора РФ, до этого применялась в течение длительного времени в СССР.

Радиационный контроль продукции. Отдельно стоит отметить работу лабораторий ВСЭ по проведению радиационной ветеринарно-санитарной экспертизы продуктов животного и растительного происхождения. В соответствии с действующим законодательством РФ на рынках всю поступающую для реализации продукцию государственная ветеринарная служба должна подвергать сплошному дозиметрическому контролю и дважды в год проводить дозиметрические исследования каждого вида продукта [10]. Несмотря на это, в полном объеме укомплектованы дозиметрами-радиометрами лаборатории ВСЭ лишь в 34 субъектах, в 6 регионах ни одна из них не обеспечена приборами, а в остальных субъектах РФ таким оборудованием обеспечены от 1 до 99% лабораторий.

В общей сложности лишь 1787 из 2795 (64%) лабораторий ВСЭ укомплектованы указанным дозиметрическим оборудованием. Из 16 регионов РФ, территории которых включены в перечень зон радиоактивного загрязнения вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС и аварии на ФГУП ПО «Маяк», только в 7 регионах лаборатории ВСЭ полностью обеспечены дозиметрами-радиометрами, в 5 субъектах подобным оборудованием оснащены от 50 до 99% лабораторий, а в 4 регионах – менее 50% (рис. 4) [11, 12].

Таким образом, лишь 319 из 439 лабораторий ВСЭ (73%), расположенных на территории 16 субъектов страны в зоне радиоактивного загрязнения, обеспечены соответствующим дозиметрическим оборудованием.

Сложившиеся условия препятствуют полноценному осуществлению радиационной ветсанэкспертизы и создают риск поступления в свободное обращение потенциально небезопасной в радиационном плане продукции, что особенно актуально для территорий вышеуказанных зон радиоактивного загрязнения.

Компетентность ветеринарных специалистов, проводящих ветсанэкспертизу. Ведущая роль при проведении ВСЭ принадлежит ветеринарным специалистам, обладающим профессиональными навыками и знаниями в данной области деятельности. Особое внимание к компетентности ветеринарных специалистов должно уделяться на убойных предприятиях, где они являются единственным звеном, обеспечивающим безопасность пищевых продуктов на пути их следования к потребителю. В соответствии с действующим законодательством уровень квалификации ветеринарных специалистов, осуществляющих ВСЭ, устанавливается путем проведения периодической аттестации [13, 14, 15]. В ходе анализа установлено, что из 4301 подлежащего аттестации специалиста подтвердили свою компетентность только 3704 ветсанэксперта (рис. 5).

При этом в 24 субъектах страны соответствие пищевых продуктов установленным нормам подтверждают 597 ветеринарных специалистов, компетентность которых не установлена путем их аттестации. Следовательно, результаты проводимой данными специалистами ВСЭ нельзя считать в полной мере достоверными и объективными, что может отразиться на безопасности пищевых продуктов.

Немаловажное значение в обеспечении безопасности пищевой продукции имеет контроль отсутствия у ве-



Рис. 4. Распределение субъектов РФ по обеспеченности лабораторий ВСЭ дозиметрами-радиометрами

Fig. 4. Distributions of the RF Subjects by the availability of the veterinary and sanitary testing laboratories equipped with radiation dosimeters

ветеринарных специалистов заболеваний, передающихся через пищевые продукты, что подтверждается путем прохождения периодических медицинских обследований, результаты которых отражаются в личных медицинских книжках. В ходе проведенного исследования установлено, что только 7875 из 11 666 ветеринарных врачей и лаборантов (67,5%), контактирующих с пищевыми продуктами, проходят медицинские осмотры и имеют личные медицинские книжки. В 7 субъектах страны ни один из вышеуказанных специалистов не прошел медицинского обследования, что свидетельствует о системном неисполнении законодательства РФ [16]. Таким образом, 3791 ветеринарный специалист, обеспечивающий ветеринарно-санитарную безопасность пищевой продукции, не имеет соответствующего медицинского заключения и не должен допускаться к контакту с продуктами питания. Подобные ситуации создают благоприятные условия для контаминации пищевых продуктов и увеличивают риск развития пищевых токсикоинфекций.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное аналитическое исследование позволяет заключить, что по состоянию на 1 января 2020 г. в системе обеспечения безопасности пищевых продуктов существует ряд пробелов, обусловленных как несовершенством регулирующей базы, так и недостатками организации системы ВСЭ на региональном уровне. В частности, в значительной части субъектов РФ выявлены: нехватка мест убой для нужд населения и хозяйствующих субъектов, а также убойно-санитарных пунктов; недостаточная обеспеченность лабораториями ВСЭ и их низкая компетентность; отсутствие в большинстве случаев механизма должного регулирования деятельности лабораторий ВСЭ, а также недостаточный контроль за компетентностью ветеринарных специалистов, осуществляющих ветсанэкспертизу.

Текущая ситуация в действующей системе подтверждения безопасности пищевых продуктов путем проведения ВСЭ свидетельствует о необходимости реализации корректирующих мер как на федеральном, так и на региональном уровне, среди которых можно выделить следующие:

- законодательное закрепление обязательного подтверждения компетентности лабораторий ВСЭ в форме аккредитации;
- законодательное закрепление запрета оформления ветеринарных сопроводительных документов на продукты убой убойными предприятиями, не обслуживаемыми ветеринарными специалистами (ветсанэкспертами) и не имеющими заключения о соответствии помещения и производственных процессов требованиям технических регламентов, а также последующая модернизация существующих реестров ФГИС «ВетИС»;
- блокирование возможности оформления ветеринарных сопроводительных документов в компоненте ФГИС «ВетИС» «Меркурий» на продукты убой, соответствие которых требованиям технических регламентов подтверждается не аттестованными в установленном порядке ветеринарными специалистами (ветсанэкспертами), путем создания в ФГИС «ВетИС» соответствующего реестра аттестованных на проведение ВСЭ ветеринарных специалистов;
- дополнение компонента ФГИС «ВетИС» «Цербер» реестром государственных лабораторий ВСЭ, подтвердивших свою компетентность аккредитацией.

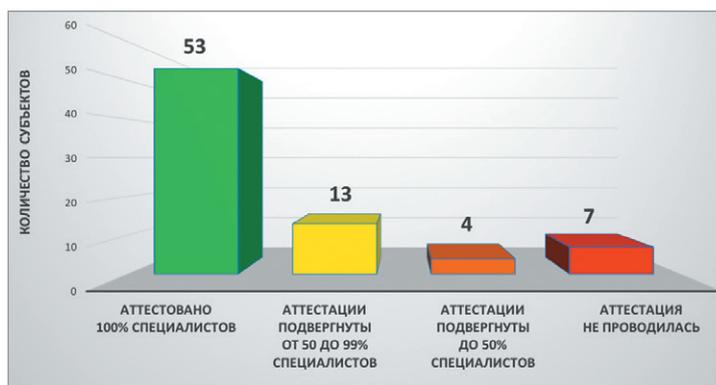


Рис. 5. Распределение субъектов РФ по проведению аттестации ветеринарных специалистов, занятых в проведении ВСЭ

Fig. 5. Distribution of the RF Subjects by the level of attestation of the veterinarians involved in veterinary and sanitary inspections

Реализация указанных мер, по нашему мнению, позволит повысить эффективность контроля за безопасностью пищевых продуктов на протяжении всего цикла их получения, а также предотвратит поступление на потребительский рынок и оборот на нем опасной и некачественной пищевой продукции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Классификация пищевой продукции, обращаемой на рынке, по риску причинения вреда здоровью и имущественных потерь потребителей для организации плановых контрольно-надзорных мероприятий: методические рекомендации (утв. приказом Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 18.01.2016 № 16). Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71213192>.
2. Всемирная организация здравоохранения. Безопасность продуктов питания. Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/food-safety> (дата обращения: 02.12.2020).
3. МЭБ. Кодекс здоровья наземных животных. Т. 1. Общие положения. Париж: МЭБ; 2019. 542 с. Режим доступа: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/oiie/oiie_terrestrial_code_g_t1.pdf.
4. Инструмент оценки эффективности ветеринарной службы (инструмент ПВС МЭБ). Париж: МЭБ; 2007. 49 с. <https://www.oiie.int/doc/ged/D5192.PDF>.
5. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции: утв. решением Комиссии Таможенного союза 09.12.2011 № 880. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/902320560>.
6. ВОЗ/ФАО. Кодекс Алиментариус. Производство продуктов животноводства: пер. с англ. М: Весь Мир; 2007. 230 с.
7. О розничных рынках и о внесении изменений в Трудовой кодекс Российской Федерации: федеральный закон от 30.12.2006 № 271-ФЗ. *КонсультантПлюс*. Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_64936.
8. О ветеринарии: Закон РФ от 14.05.1993 № 4979-1. *КонсультантПлюс*. Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_4438.
9. ГОСТ ISO/IEC 17025-2019. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200166732>.
10. Положение о системе государственного ветеринарного контроля радиоактивного загрязнения объектов ветеринарного надзора в Российской Федерации: утв. Минсельхозпродом РФ 20.02.1998. *КонсультантПлюс*. Режим доступа: <http://www.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc&base=EXP&n=314178#TUAAbS2Tc9bVoxU1>.
11. Перечень населенных пунктов, находящихся в границах зон радиоактивного загрязнения вследствие катастрофы на Чернобыльской АЭС: утв. постановлением Правительства РФ от 08.10.2015 № 1074. Режим доступа: <https://base.garant.ru/71216726>.
12. О мерах по реализации Закона Российской Федерации «О социальной защите граждан, подвергшихся воздействию радиации вследствие аварии в 1957 году на производственном объединении «Маяк» и сбросов радиоактивных отходов в реку Теча»: постановление

Правительства РФ от 08.10.1993 № 1005 (ред. от 20.11.1999). Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/9004672>.

13. Инструкция по ветеринарному клеймению мяса: утв. Минсельхозпродом России 28.04.1994. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/9005941>.

14. О введении аттестации руководящих, инженерно-технических работников и других специалистов предприятий и организаций промышленности, строительства, сельского хозяйства, транспорта и связи: утв. постановлением Совета Министров СССР от 26.07.1973 № 531. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/9035213?marker=7D20K3>.

15. Положение о порядке проведения аттестации руководящих, инженерно-технических работников и других специалистов предприятий и организаций промышленности, строительства, сельского хозяйства, транспорта и связи: утв. Постановлением Государственного комитета Совета Министров СССР по вопросам труда и заработной платы от 05.10.1973 № 267. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/9035214>.

16. Перечень работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования) работников: Приложение № 2 к приказу Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 12.04.2011 № 302н. Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_120902/ade2f21aef1dcb633ff5de4fa0a5cb2c5a40613.

REFERENCES

1. Control-oriented classification of the marketed food products by their potential risk of harm to human health and property losses [Klassifikatsiya pishchevoj produktsii, obrashchaemoj na rynke, po risku prichineniya vreda zdorov'yu i imushchestvennyh poter' potrebitel' dlya organizatsii planovyy kontrol'no-nadzornyh meropriyatij]: Methodical Guidelines (approved by the Order of the Federal Service for Consumer Rights Protection and Human Welfare of 18.01.2016 No. 16). Available at: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71213192>. (in Russian)

2. World Health Organization. Food safety. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety> (date of access: 02.12.2020).

3. OIE. Terrestrial Animal Health Code. Vol. 1. General provisions. Paris: OIE; 2019. Available at: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access>.

4. OIE Tool for the Evaluation of Performance of Veterinary Services. Paris: OIE; 2019. 51 p. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Support_to_OIE_Members/docs/pdf/2019_PVS_Tool_FINAL.pdf.

5. Technical Regulations of the Customs Union TR CU 021/2011. On Food Safety: Approved by the decision of the Commission of the Customs Union on December 9, 2011 No. 880. Available at: <https://www.eurexcert.com/TRCUpdf/TRCU-0021-On-food-safety.pdf>.

6. WHO/FAO. Codex Alimentarius. Animal food production. Rome; 2007. 192 p.

7. On retail markets and amendments to the Labour Code of the Russian Federation [O roznichnyh rynkah i o vnesenii izmenenij v Trudovoy kodeks Rossijskoj Federatsii]: Federal Law of 30.12.2006 No. 271-FZ. *ConsultantPlus*. Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_64936. (in Russian)

8. Veterinary Law [O veterinarii]: Law of the Russian Federation No. 4979-1 of 14.05.1993. *ConsultantPlus*. Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_4438. (in Russian)

9. GOST ISO/IEC 17025-2019. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200166732>. (in Russian)

10. Regulation on the state veterinary control of the radioactive contamination of the veterinary regulated objects in the Russian Federation [Polozhenie o sisteme gosudarstvennogo veterinarnogo kontrolya radioaktivnogo zagryazneniya ob'ekтов veterinarnogo nadzora v Rossijskoj Federatsii]: approved by the RF Minselkhoz on 20.02.1998. *ConsultantPlus*. Available at: <http://www.consultant.ru/cons/cgi/online.cgi?req=doc&base=EXP&n=314178#TUAAbd52Tc9bVoxU1>. (in Russian)

11. List of settlements located in the zones of radioactive contamination due to the disaster at the Chernobyl NPP [Perechen' naselennyh punktov, nahodyashchihся v granicah zon radioaktivnogo zagryazneniya vsledstvie katastrofy na Chernobyl'skoj AES]: approved by Russian Federation Governmental Ordinance of 08.10.2015 No. 1074. Available at: <https://base.garant.ru/71216726>. (in Russian)

12. On measures to be taken for implementation of the Russian Federation Law on social protection of citizens exposed to radiation caused by the disaster in the industrial group "Majak" in 1957 and due to the discharge of radioactive wastes in Techa River [O merah po realizatsii Zakona Rossijskoj Federatsii «O social'noj zashchite grazhdan, podvergnutihся radiatsii vsledstvie avarii v 1957 godu na proizvodstvennom ob'edinenii "Mayak" i sbrosov radioaktivnyh othodov v reku Techa»]: Russian Federation Governmental Ordinance of 08.10.1993 No. 1005 (edited on 20.11.1999). Available at: <https://docs.cntd.ru/document/9004672>. (in Russian)

13. Guidance on health marks applied to meat [Instrukciya po veterinarnomu klejmeniyu myasa]: approved by Minselkhozprod of Russia on 28.04.1994. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/9005941>. (in Russian)

14. On introduction of attestation of managing, engineering and other specialized employees of the industrial, construction, agricultural, transport and communication establishments and institutions [O vvedenii attestatsii rukovodyashchih, inzhenerno-tekhnicheskikh rabotnikov i drugih spetsialistov predpriyatij i organizatsij promyshlennosti, stroitel'stva, sel'skogo hozyajstva, transporta i svyazi]: approved by the Ordinance of the Council of Ministers of the USSR on 26.07.1973 No. 531. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/9035213?marker=7D20K3>. (in Russian)

15. Regulation on the procedure of attestation of managing, engineering and other specialized employees of the industrial, construction, agricultural, transport and communication establishments and institutions [Polozhenie o poryadke provedeniya attestatsii rukovodyashchih, inzhenerno-tekhnicheskikh rabotnikov i drugih spetsialistov predpriyatij i organizatsij promyshlennosti, stroitel'stva, sel'skogo hozyajstva, transporta i svyazi]: approved by the Ordinance of the Labor and Salary State Committee of the Council of Ministers of the USSR on 05.10.1973 No. 267. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/9035214>. (in Russian)

16. List of activities requiring preliminary and regular medical checks (examination) of the employees [Perechen' rabot, pri vypolnenii kotoryh provodyatsya obyazatel'nye predvaritel'nye i periodicheskie medicinskie osmotry (obsledovaniya) rabotnikov]: Annex 2 to the Order of the Russian Federation Ministry of Health and Social Development of 12.04.2011 No. 302n. Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_120902/ade2f21aef1dcb633ff5de4fa0a5cb2c5a40613. (in Russian)

Поступила 29.04.2021

Принята в печать 19.06.2021

Received on 29.04.2021

Approved for publication on 19.06.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Селянин Аркадий Михайлович, ведущий ветеринарный врач информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Шибяев Михаил Александрович, кандидат ветеринарных наук, заведующий сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Бельчихина Анастасия Владимировна, младший научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Караулов Антон Константинович, кандидат ветеринарных наук, руководитель информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Arkady M. Selyanin, Leading Veterinarian, Information and Analysis Centre, FGBl "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Mikhail A. Shibayev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Sector, Information and Analysis Centre, FGBl "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Anastasia V. Belchikhina, Junior Researcher, Head of Sector, Information and Analysis Centre, FGBl "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Anton K. Karaulov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Information Analysis Centre, FGBl "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. Юрьевец

Телефоны: +7 (4922) 26-15-12, 26-17-65, 26-19-88, доб. 22-27

Контактное лицо: Никешина Татьяна Борисовна,
e-mail: nikeshina@arriah.ru

Узнайте больше на сайте журнала
<http://veterinary.arriah.ru/jour/index>



[Facebook.com/arriah.ru/](https://www.facebook.com/arriah.ru/)



[@fgbi_arriah](https://www.instagram.com/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; количество цитируемых работ в оригинальных статьях – около 30, в обзорах – не более 60).

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 уместиться в печатное поле страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком. Максимальное суммарное количество таблиц и рисунков в одной статье должно быть не более 5.

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

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

ОБЪЯВЛЯЕТ

о приеме в аспирантуру в 2021 году по двум направлениям подготовки:

- 36.06.01 Ветеринария и зоотехния,**
по специальности научных работников
*06.02.02 Ветеринарная микробиология,
вирусология, эпизоотология, микология
с микотоксикологией и иммунология* –
6 мест;
- 06.06.01 Биологические науки,**
по специальности научных работников
03.02.02 Вирусология – 4 места.

НЕОБХОДИМЫЕ ДОКУМЕНТЫ:

- заявление на имя директора ФГБУ «ВНИИЗЖ»;
- документ (документы), удостоверяющий личность и гражданство поступающего;
- оригинал диплома специалиста или диплома магистра;
- список опубликованных научных работ, изобретений и отчетов по научно-исследовательской работе, подписанный в установленном порядке либо реферат по избранному направлению подготовки;
- документ, свидетельствующий об индивидуальных достижениях поступающего (дипломы победителя или лауреата конкурсов, фестивалей, выставок и т. д.);
- медицинская справка (форма № 086/у), фото (4 × 6 см) – 2 шт.

Прием документов для поступления в аспирантуру проводится с 1 июня по 31 августа 2021 года

Поступающие в аспирантуру сдают конкурсные вступительные экзамены в соответствии с государственными образовательными стандартами высшего профессионального образования по специальной дисциплине, философии, иностранному языку.

Адрес приемной комиссии:

600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец,
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья
животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Телефоны для справок: (4922) 52-99-62; 26-15-12
(доб. 25-20, 20-20, 22-20)

о проведении 2–3 декабря 2021 года конференции

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» приглашает специалистов в области ветеринарии, аспирантов, научных сотрудников и ведущих ученых принять участие в работе VI Международной научной конференции «Достижения ученых – в ветеринарную практику», посвященной 60-летию учреждения аспирантуры ФГБУ «ВНИИЗЖ», которая пройдет 2–3 декабря 2021 г. по адресу: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ».

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАБОТЫ КОНФЕРЕНЦИИ:

- эпизоотология (мониторинг инфекционных болезней сельскохозяйственных, диких и домашних животных, вакцинопрофилактика, иммунология);
- биотехнология (культивирование вирусов и клеток, производство вакцин);
- диагностика и молекулярная биология вирусов.

Форма участия в конференции: очная, заочная, дистанционная.

Статьи будут опубликованы в сборнике «Труды Федерального центра охраны здоровья животных» с последующим размещением в базе данных российского индекса научного цитирования (РИНЦ). Все научные работы примут участие в конкурсе, по итогам которого лучшие из них по каждому из направлений работы конференции будут изданы в журнале «Ветеринария сегодня», включенном в Перечень изданий ВАК.

С целью своевременного формирования программы и подготовки материалов конференции к изданию необходимо направить в срок до 30 сентября 2021 г. по адресу nikeshina@arriah.ru:

- заявку на участие в конференции;
- научную статью для публикации (требования к оформлению см. на сайте);
- экспертное заключение направляющей организации о возможности открытого опубликования.

**Подробная информация представлена на сайте
ФГБУ «ВНИИЗЖ» www.arriah.ru в разделе
«Семинары и конференции».**

Контактная информация:

тел. +7(4922) 26 15 12 (доб. 25 20), e-mail: romenskaya@arriah.ru
тел. +7(4922) 52 99 62 (доб. 22-20), e-mail: elnikova@arriah.ru
тел. +7(4922) 26 15 12 (доб. 23-10), e-mail: komova@arriah.ru
тел. +7 (4922) 26 15 12 (доб. 22-27), e-mail: nikeshina@arriah.ru
тел. +7(4922) 26 15 12 (доб. 25-01), e-mail: guseva_ey@arriah.ru