



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

НОЯБРЬ | NOVEMBER

ТОМ 10 № 4 2021

SCIENTIFIC JOURNAL



О природе
вирусов
и радикальном
изменении
их таксономии

стр. 266

Генетический анализ нуклеотидных
последовательностей гена нейраминидазы
изолятов вируса высокопатогенного гриппа
птиц A/H5N8, выделенных на территории
Российской Федерации в 2020 году

стр. 301

Сравнительная
характеристика репродукции
вирусов рода *Leporipoxvirus*
в перевиваемой культуре
клеток

стр. 323

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

НОЯБРЬ ТОМ 10 № 4 2021

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

QUARTERLY SCIENTIFIC JOURNAL

NOVEMBER VOLUME 10 No. 4 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: GlobalP / iStock

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; <https://orcid.org/0000-0003-0786-5317>; ResearcherID: K-9491-2015

Глотов Александр Гаврилович – д-р вет. наук, профессор, ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий РАН», г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0006-0196>; Scopus Author ID: 7004340265

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

Груздев Константин Николаевич – д-р биол. наук, профессор, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>; Scopus Author ID: 6506731135

Гулюкин Михаил Иванович – д-р вет. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-7489-6175>; Scopus Author ID: 56114346900; ResearcherID: V-4640-2017

Забережный Алексей Дмитриевич – д-р биол. наук, профессор, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», г. Щелково, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7635-2596>; Scopus Author ID: 6507196549; ResearcherID: V-7959-2017

Иголкин Алексей Сергеевич – канд. вет. наук, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>

Ирза Виктор Николаевич – д-р вет. наук, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>

Кононов Александр Владимирович – канд. вет. наук, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/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; <https://orcid.org/0000-0002-4641-4757>; Scopus Author ID: 6504022390

Кузьминова Елена Васильевна – д-р вет. наук, Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт – обособленное структурное подразделение ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», г. Краснодар, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>

Ломако Юрий Васильевич – канд. вет. наук, доцент, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Выхеделского», г. Минск, Беларусь; <https://orcid.org/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; <https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>; Scopus Author ID: 7401689971

Махамат Нгуерабе Ямтитина – канд. вет. наук, Комратский государственный университет, г. Гагаузия, Молдова; <https://orcid.org/0000-0002-2738-0408>

Мищенко Владимир Александрович – д-р вет. наук, профессор, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/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; <https://orcid.org/0000-0002-3643-3129>; Scopus Author ID: 7004534956

Настасиевич Иван – PhD в области ветеринарии, Институт гигиены и технологии мяса, г. Белград, Сербия; <https://orcid.org/0000-0002-7141-269X>

Недосеков Виталий Владимирович – д-р вет. наук, профессор, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина; <https://orcid.org/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; <https://orcid.org/0000-0002-3981-0882>; ResearcherID: F-5330-2019

Плющиков Вадим Геннадьевич – д-р с.-х. наук, профессор, Аграрно-технологический институт, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2057-4602>

Пронин Валерий Васильевич – д-р биол. наук, профессор, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>; ResearcherID: C-3433-2014

Прохватилова Лариса Борисовна – канд. биол. наук, доцент, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9560-0724>; Scopus Author ID: 36244177300

Прунтова Ольга Владиславовна – д-р биол. наук, профессор, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>

Русалеев Владимир Сергеевич – д-р вет. наук, профессор, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4972-6326>

Савченкова Ирина Петровна – д-р биол. наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/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; <https://orcid.org/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; <https://orcid.org/0000-0003-1085-220X>

Соколович Марьяна – PhD в области ветеринарии, Хорватский ветеринарный институт, Центр птицеводства, г. Загреб, Хорватия; <https://orcid.org/0000-0003-3373-7415>

Старов Сергей Константинович – канд. вет. наук, старший научный сотрудник, 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; <https://orcid.org/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, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>; Scopus Author ID: 57204228517

Шахов Алексей Гаврилович – д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии Россельхозакадемии», г. Воронеж, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6177-8858>

Шкуратова Ирина Алексеевна – д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения РАН», г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>

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

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

Научный журнал «Ветеринария сегодня» включен в информационно-аналитическую систему РИНЦ, каталог журналов открытого доступа DOAJ, а также в список журналов, входящих в базу данных RSCI на платформе Web of Science, и международную базу данных EBSCO. Электронные версии журнала размещаются в полнотекстовом формате на сайте Научной электронной библиотеки (НЭБ) eLIBRARY.RU, в каталоге DOAJ и по адресу <http://veterinary.arriah.ru/jour/index>. Зарегистрированный товарный знак, свидетельство № 514190.

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. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Издатель: 000 «Вейнард», 129626, г. Москва, проспект Мира, д. 102, стр. 31, комн. 12
Адрес редакции: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Типография: 000 «ГРАН ПРИ», 152900, Ярославская область, г. Рыбинск, ул. Луговая, 7
Подписано в печать: 15 ноября 2021 года
Дата выхода в свет: 30 ноября 2021 года

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 Nikesheva, Candidate of Science (Biology),
FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: nikesheva@arriah.ru;
ORCID ID 0000-0002-0959-5915; Tel.: +7 (4922) 26-15-12, ext. 22-27

Cover photo: Global P / iStock

Editorial Board:

Boldbaatar Bazartseren – PhD/DVM, Institute of Veterinary Medicine,
Ulan Bator, Mongolia; Scopus Author ID: 2663473300

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; <https://orcid.org/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;
<https://orcid.org/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,
FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia;
<https://orcid.org/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; <https://orcid.org/0000-0002-7489-6175>;
Scopus Author ID: 56114346900; ResearcherID: V-4640-2017

Alexey D. Zaberezhny – Dr. Sci. (Biology), Professor,
FSBI "All-Russian Research and Technological Institute of Biological Industry",
Schelkovo, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7635-2596>; Scopus Author ID: 6507196549;
ResearcherID: V-7959-2017

Alexey S. Igolkin – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), FGBI "Federal Centre for Animal Health",
Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>

Victor N. Irza – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), FGBI "Federal Centre for Animal Health",
Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>

Alexander V. Kononov – Cand. Sci. (Veterinary Medicine),
FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia;
<https://orcid.org/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;
<https://orcid.org/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; <https://orcid.org/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. Vyshelsky, Minsk, Belarus; <https://orcid.org/0000-0002-9611-8286>;
Scopus Author ID: 55996656700; ResearcherID: AAE-5001-2019

Vladimir V. Makarov – Dr. Sci. (Biology), Professor, RUDN University,
Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>; Scopus Author ID: 7401689971

N. Ya. Makhamat – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Comrat State University,
Gagauzia, Moldova; <https://orcid.org/0000-0002-2738-0408>

Vladimir A. Mischenko – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, FGBI "Federal Centre for Animal
Health", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3751-2168>; Scopus Author ID: 7103128956

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

Ivan Nastasijevic – PhD/DVM, Institute of Meat Hygiene and Technology,
Belgrade, Serbia; <https://orcid.org/0000-0002-7141-269X>

Vitaly V. Nedosekov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor,
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;
<https://orcid.org/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; <https://orcid.org/0000-0002-3981-0882>; ResearcherID: F-5330-2019

Vadim G. Plyuschnikov – Dr. Sci. (Agricultural Science), Professor,
Agrarian and Technological Institute, RUDN University, Moscow, Russia;
<https://orcid.org/0000-0003-2057-4602>

Valery V. Pronin – Dr. Sci. (Biology), Professor, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia;
<https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>; ResearcherID: C-3433-2014

Larisa B. Prokhvatilova – Cand. Sci. (Biology), Associate Professor,
FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia;
<https://orcid.org/0000-0002-9560-0724>; Scopus Author ID: 36244177300

Olga V. Pruntova – Dr. Sci. (Biology), Professor, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia;
<https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>

Vladimir S. Russaleyev – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor,
FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4972-6326>

Irina P. Savchenkova – Dr. Sci. (Biology), Professor, FSBSI "Federal Scientific Centre VIEV",
Moscow, Russia; <https://orcid.org/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; <https://orcid.org/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. Sisayagin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy
of Sciences, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1085-220X>

Marijana Sokolovic – PhD/DVM, Croatian Veterinary Institute, Poultry Centre, Zagreb, Croatia;
<https://orcid.org/0000-0003-3373-7415>

Sergey K. Starov – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Senior Researcher,
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;
<https://orcid.org/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), FGBI "Federal Centre for Animal Health",
Vladimir, Russia; <https://orcid.org/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; <https://orcid.org/0000-0002-6177-8858>

Irina A. Shkuratova – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian
Academy of Sciences, FSBSI Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre,
Ural Branch of RAS, Yekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>

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

Design and composition: Maria Bondar

Technical editor: Elena Guseva

Coordinating Editor: Julia Migulina

Content editors of FGBI "ARRIAH":

Anna Frolovtseva, 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 F5 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, DOAJ,
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: November 15, 2021
Issued: November 30, 2021

Creative Commons
Attribution 4.0 License



18+

Содержание

ОБЗОРЫ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

- 266** О природе вирусов и радикальном изменении их таксономии
В. В. Макаров, Л. П. Бучацкий

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

- 271** К поиску причин сенсибилизации крупного рогатого скота к ППД-туберкулину для млекопитающих
М. О. Баратов, П. С. Гусейнова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ МРС

- 277** Полуколичественная оценка риска заноса чумы мелких жвачных на территорию Российской Федерации с дикими восприимчивыми животными
С. В. Щербинин, Ф. И. Коренной, Т. П. Акимова, А. К. Караулов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

- 285** Методы отбора крови для выявления антител к вирусу африканской чумы свиней у диких кабанов и домашних свиней в полевых условиях
А. С. Першин, А. Р. Шотин, Е. О. Морозова, А. С. Иголкин, О. А. Мануйлова, И. В. Шевченко, А. А. Шевцов, Н. Н. Власова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

- 295** Сравнительная эффективность эймерицидных препаратов при лечении цыплят-бройлеров в условиях мелкотоварного производства
А. Б. Дагаева, Б. М. Махиева
- 301** Генетический анализ нуклеотидных последовательностей гена нейраминидазы изолятов вируса высокопатогенного гриппа птиц A/H5N8, выделенных на территории Российской Федерации в 2020 году
П. Б. Акшалова, Н. Г. Зиняков, А. В. Андриясов, П. Д. Жестков, З. Б. Никонова, С. Н. Колосов, И. А. Чвала
- 308** Эпизоотологический мониторинг гриппа птиц на территории Республики Крым в 2019–2020 гг.
Д. В. Гадзевич, С. И. Данильченко, Н. Г. Воротилова, М. А. Пасунькина, В. А. Уппе, В. Н. Ирза, М. С. Волков, Н. Г. Зиняков

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

- 317** Сравнительная эффективность вакцин в жидкой и лиофилизированной формах при оральной вакцинации собак против бешенства
З. Д. Ершебулов, А. Т. Жунушов, Ж. Т. Аманова
- 323** Сравнительная характеристика репродукции вирусов рода *Leporipoxvirus* в перевиваемой культуре клеток
О. Г. Лаптева, С. Г. Юрков, И. П. Синдрякова, А. В. Луницин
- 329** Эхинококкоз собак в субъектах Северного Кавказа (инфраструктурный, эпизоотологический и санитарно-гигиенический анализ)
С. Ш. Кабардиев, А. М. Биттиров, С. А. Айгубова, Н. Х. Гюльяхмедова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

- 335** Генотипирование *Staphylococcus aureus*, выделенного у низших приматов, на основе полиморфизма коагулазного гена и генов комплекса *agr*
В. А. Калашникова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

- 342** Перспективы применения кормовой добавки на основе метаболитов *Bacillus subtilis* в молочном животноводстве
С. В. Малков, А. С. Красноперов, А. П. Порываева, О. Ю. Опарина, А. И. Белоусов, А. Н. Бриллиант
- 349** Влияние хлореллы на гематологические показатели и биодоступность питательных веществ рациона у макаков-резусов
Н. В. Гапонов, Ал. В. Панченко, Ан. В. Панченко, Ю. П. Чугуев

Contents

REVIEWS | GENERAL ISSUES

- 266** Nature of viruses and the radical change in viral taxonomy
V. V. Makarov, L. P. Buchatsky

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 271** More on search for causes of sensitization to tuberculin PPD for mammals in cattle
M. O. Baratov, P. S. Huseynova

ORIGINAL ARTICLES | SMALL RUMINANTS DISEASES

- 277** Semi-quantitative risk assessment of peste des petits ruminants introduction with wild animals into Russian Federation
S. V. Shcherbinin, F. I. Korennoy, T. P. Akimova, A. K. Karaulov

ORIGINAL ARTICLES | PORCINE DISEASES

- 285** Techniques of blood sampling for detection of African swine fever virus in wild boar and domestic pigs in the field conditions
A. S. Pershin, A. R. Shotin, E. O. Morozova, A. S. Igolkin, O. A. Manuylova, I. V. Shevchenko, A. A. Shevtsov, N. N. Vlasova

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

- 295** Comparative effectiveness of eimeriocidal products for treatment of broiler chickens in small scale production
A. B. Dagaeva, B. M. Makhieva
- 301** Genetic analysis of nucleotide sequences of neuraminidase gene of highly pathogenic avian influenza A/H5N8 virus isolates recovered in the Russian Federation in 2020
P. B. Akshalova, N. G. Zinyakov, A. V. Andriyasov, P. D. Zhestkov, Z. B. Nikonova, S. N. Kolosov, I. A. Chvala
- 308** Epidemiological monitoring of avian influenza in the Republic of Crimea in 2019–2020
D. V. Gadzevich, S. I. Danylchenko, N. G. Vorotilova, M. A. Pasunkina, V. A. Uppe, V. N. Irza, M. S. Volkov, N. G. Zinyakov

ORIGINAL ARTICLES | DISEASES OF SMALL PETS

- 317** Comparative effectiveness of liquid and freeze-dried vaccines for oral vaccination of dogs against rabies
Z. D. Yershebulov, A. T. Zhunushov, Zh. T. Amanova
- 323** Comparative characterization of *Leporipoxvirus* members' reproduction in continuous cell culture
O. G. Lapteva, S. G. Yurkov, I. P. Sindryakova, A. V. Lunitsin
- 329** Echinococcosis of dogs in the North Caucasian Subjects (infrastructural, epizootological and sanitary-hygienic analysis)
S. Sh. Kabardiev, A. M. Bittirov, S. A. Aigubova, N. Kh. Gyulakhmedova

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 335** Coagulase gene and *agr* complex polymorphism-based genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from non-human primates
V. A. Kalashnikova

ORIGINAL ARTICLES | GENERAL ISSUES

- 342** Prospects for the use of a *Bacillus subtilis* metabolites-based feed additive in dairy farming
S. V. Malkov, A. S. Krasnoperov, A. P. Poryvaeva, O. Yu. Oparina, A. I. Belousov, A. N. Brilliant
- 349** Effect of *Chlorella* on hematological parameters and nutrient bioavailability in the diet of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*)
N. V. Gaponov, Al. V. Panchenko, An. V. Panchenko, Yu. P. Chuguev



К столетию открытия
африканской чумы свиней Р. Монтгомери

О природе вирусов и радикальном изменении их таксономии

В. В. Макаров¹, Л. П. Бучацкий²

¹ ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), Москва, Россия

² Институт рыбного хозяйства НААН, Киев, Украина

¹ <https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>, e-mail: vvm-39@mail.ru

² e-mail: iridolpb@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Краткое сообщение посвящено радикальным изменениям в таксономии вирусов. С помощью метагеномного анализа установлено существование огромного количества разнообразных вирусов в окружающей среде во всех сферах жизни без каких-либо связей с тривиальными паразитизмом, инфекционностью, патогенностью. Представление о вирусах вышло за рамки первоначальной модели паразитических патогенов с признанием их роли в биологии хозяина и поддержании естественных экосистем. Ковольция вирусного и клеточного геномов включает взаимный горизонтальный перенос генов и совместное создание новых биологических функций как механизм филогенеза и филодинамики соактантов. Сформулированы представления о происхождении вирусов и их отношении ко Всеобщему Древу Жизни. В связи с этим Международный комитет по таксономии вирусов изменил прежний код их классификационной иерархии из пяти рангов на пятнадцатиранговую, тесно согласующийся с современной линнеевской таксономией и вмещающий в систему органического мира весь спектр генетического многообразия виросферы. Изменения в ранговой иерархии таксонов базируются на прогрессе от традиционной сегрегации вирусов на основе фенотипа до многоступенчатого процесса, включающего сравнительные характеристики последовательностей консервативных генов и белков, филогению генов, их синтез, общее содержание. Международный комитет по таксономии вирусов, осуществляющий надзор за официальной классификацией вирусов и номенклатурой таксонов, допускает возможные неиерархические классификации вирусов вне таксономической компетенции. Приведенные положения иллюстрированы схемами химерного полифилетического происхождения вирусов и новой ранговой структуры, в таблице даны примеры современной классификации вирусов – возбудителей некоторых социально значимых инфекций.

Ключевые слова: обзор, вирусы, таксономия

Для цитирования: Макаров В. В., Бучацкий Л. П. О природе вирусов и радикальном изменении их таксономии. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 266–270. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-266-270.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Макаров Владимир Владимирович, доктор биологических наук, профессор, ФГАУ ВО «Российский университет дружбы народов», 117198, Россия, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6, e-mail: vvm-39@mail.ru.

Nature of viruses and the radical change in viral taxonomy

V. V. Makarov¹, L. P. Buchatsky²

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

² Institute of Fisheries of the National Academy of Agrarian Sciences (NAAS), Kyiv, Ukraine

¹ <https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>, e-mail: vvm-39@mail.ru

² e-mail: iridolpb@gmail.com

SUMMARY

A short report is devoted to the radical changes in the taxonomy of viruses. The metagenomic sequencing has revealed the presence of a vast variety of viruses in diverse environmental samples without any connections with banal parasitism, infectivity, or pathogenicity. The understanding of viruses has expanded beyond the original parasitic-pathogen model, and now virologists recognize the role of viruses in host regulation and the maintenance of natural ecosystems. Co-evolution of the viral and cellular genomes includes mutual horizontal gene transfer and joint development of new biological functions, such as the mechanism of phylogenesis and phylodynamics of coactants. The concepts of the origin of viruses and their relation to the Universal Tree of Life are formulated. In this regard, the International Committee on the Taxonomy of Viruses (ICTV) changed the previous Code of their classification hierarchy from five ranks to a fifteen-rank one, that emulates a Linnaean framework and accommodates the entire spectrum of genetic divergence in the virosphere. Changes in the rank hierarchy are based on the evolution of the recognition of virus taxa over time, from a traditional phenotype-based characterization process to a multistage process that includes comparative sequence analyses of conserved genes and proteins, including gene phylogeny, gene synteny and shared gene content. The ICTV, that oversees the official classification of viruses and nomenclature of taxa, accepts possible non-hierarchical classifications of viruses beyond taxonomic attribution. The above provisions are illustrated with schemes of chimeric polyphyletic origin of viruses and a new rank structure; the table gives examples of the modern classification of viruses that cause some socially significant infections.

Keywords: review, viruses, taxonomy

For citation: Makarov V. V., Buchatsky L. P. Nature of viruses and the radical change in viral taxonomy. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 266–270. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-266-270.

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

For correspondence: Vladimir V. Makarov, Doctor of Science (Biology), Professor, RUDN University, 117198, Russia, Moscow, ul. Miklukho-Maklaya, 6, e-mail: vvm-39@mail.ru.

Вирусы в биосфере распространены повсеместно и как облигатные внутриклеточные паразиты поражают организмы всех биологических видов, включая крупные вирусы. Поэтому они, вероятно, являются самой многочисленной формой жизни на Земле, полноправно образующей специфическую общность живой материи самостоятельного типа, определяемую как виросфера. Исходя из этого, сформулирован оригинальный принцип деления биологических объектов на две основные группы – рибосомальные (бактерии, археи, эукариоты) и капсидные (вирусы), а для других самовоспроизводящихся структур предложено название «сиротские» репликоны (вириды, плазмиды) [1, 2].

До какого-то времени наука и практика ограничивались преимущественно негативными эффектами их существования, исходя из определения, данного Андре Львовым (1957) при формулировке концепции вирусов как «строго внутриклеточных, потенциально патогенных агентов с инфекционной фазой развития, содержащих нуклеиновую кислоту только одного типа, репродуцирующихся в форме генетического материала, неспособных к росту и бинарному делению и лишенных «системы Липмана» (одной из ферментных систем, участвующих в производстве энергии)» [3]. В современном представлении вирусы – это капсидные организмы, состоящие из белков и нуклеиновых кислот, формирующие нуклеокапсиды путем самосборки, использующие для своего жизненного цикла рибосомальные организмы [4, 5].

Вирусологические исследования биосферы последнего времени, их фундаментальные и прикладные результаты стали новым импульсом для развития вирусологии как науки о своеобразной форме жизни, живой материи на одном из исходных этапов ее возникновения и эволюции, объединенной ранее в отдельное царство *Vira*. Сотни тысяч преимущественно неизвестных гигантских дезоксирибовирусов, формирующих морской вирусный метагеном (или виром), главным образом синезеленой водоросли *Prochlorococcus* – основного элемента фотосинтеза на Земле, по иному представили роль вирусов в биосфере, в планетарном круговороте генов, вещества, энергии, в экономике природы в целом. Именно они обуславливают необыкновенное буйство жизни по меньшей мере в важной, если не важнейшей части планеты – Мировом океане, первичном источнике живой материи. В этих условиях детрит – продукты разрушения вирусами одноклеточных организмов, составляющих планктон, – обеспечивает свыше трети органических ресурсов в водных экосистемах; формируется обходной, упрощающий и ускоряющий жизненные процессы вирусный шунт,

дающий суммарный годичный выход порядка 0,5 гига-тонны углерода [6]. При этом плотность вирусного населения в поверхностных слоях океана, по-видимому, измеряется сотнями миллионов вирусных частиц в литре воды [7].

Полученные при исследовании новых элементов вирусологии данные позволили выдвинуть гипотезу относительно роли вирогенеза в образовании клеточных форм жизни. Структура и биохимия вновь открытых самых крупных мимивирусов имеет много общего с ядром эукариот и указывает на возможный вирусный эукариогенез по аналогии с вектором эндосимбиотического происхождения других важнейших клеточных органелл, в частности морские свободно живущие альфапротеобактерии → митохондрии, цианобактерии → хлоропласты грибов и растений [4, 8].

Однако концептуально отнесение вирусов к живому миру до сих пор многими подвергается сомнению, а живые клетки – *de facto* хозяева в вирусных паразитарных системах – рассматриваются как своеобразная реакционная среда для метаболической реализации чужеродной для них генетической информации. В частности, один из основоположников отечественной вирусологии академик В. М. Жданов (1914–1987) отрицал популяционный уровень существования вирусов, отдавая предпочтение в исследованиях исключительно биосинтетическим аспектам. Строгое разделение между живыми и неживыми существами ставит вирусы далеко от Всеобщего Древа Жизни и, по сути, исключает их из современной системы органического мира, хотя объективно они играют важную роль в эволюции – силе, которая движет развитие всей жизни на Земле.

Достижения в области геномного секвенирования и сравнительной геномики за последнее десятилетие позволили выяснить многие элементы эволюционных отношений между организмами субклеточного и клеточного уровней. С помощью метагеномного анализа установлено существование огромного количества разнообразных вирусов в окружающей среде во всех сферах жизни в явно здоровых условиях, без каких-либо связей с тривиальными паразитизмом, инфекционностью и патогенностью.

Представление о вирусах вышло за рамки первоначальной модели паразитических патогенов, и теперь признается их роль в биологии хозяина и поддержании естественных экосистем [9]. В частности, коэволюция вирусного и клеточного геномов включает взаимный горизонтальный перенос генов и совместное создание новых биологических функций как реальный и широко «употребляемый» механизм в филогенезе и филодинамике соактантов. От самых мелких на сегодня

цирковирусов размером 12–27 нм, всего два гена которых реплицируются и транскрибируются клеточными ферментами, с одним структурным белком, до новых гигантских дезоксирибовирусов размером 400–800 нм, с геномом до 1200 тысяч пар оснований, кодирующим более 900 полипептидов, вирусы и их клетки-хозяева теснейшим образом взаимосвязаны не только в экологическом, но и эволюционном плане [10].

Своего рода обобщающим свидетельством этому может служить диаграмма, определяющая происхождение вирусов и их отношение ко Всеобщему Древу Жизни (рис. 1).

Таксономия вирусов возникла как дисциплина в середине XX века и традиционно фокусировалась на группировании очевидно близкородственных вирусов. Самые ранние версии, тогда еще только номенклатуры вирусов, ориентированные на их микроэволюцию и признававшие лишь роды и семейства, со временем превратились в пятиранговую иерархию видов, родов, подсемейства, семейств и отрядов в соответствии с разделами линнеевской иерархической структуры в таксономиях клеточных организмов, остававшуюся удовлетворительной до 2017 г. Однако сегодня таксономия как наука в биологическом преломлении, изучающая принципы, методы и правила классификации организмов, принадлежит к числу бурно развивающихся направлений, включая все новые и новые методы математической статистики и вычислительной биологии, компьютерный анализ, сравнительный анализ ДНК и РНК, анализ ультраструктуры клеток и многие другие возможности [11].

В связи с этим в течение последних лет Международный комитет по таксономии вирусов (МКТВ, International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV) признал необходимость расширения их систематики с включением обобщающих связей между отдален-

но родственными представителями этой категории организмов, отражающих процессы макроэволюции. С этой целью МКТВ изменил прежний пятиранговый код на классификационную иерархию из 15 рангов, которая, будучи тесно согласованной с современной линнеевской таксономией, может вместить весь спектр генетического многообразия виросферы в систему органического мира (рис. 2) [12].

Новая структура включает восемь основных рангов (главных, или первичных) и семь производных от них (или вторичных, за исключением вида) аналогов ранее существовавшего подсемейства. Основные ранги – четыре из ранее использовавшихся, в первой половине иерархии (*вид, род, семейство, отряд*), и четыре новых выше отряда (*класс, тип, царство, сфера*). В числе производных – шесть новых, названиями которых служат приставочные дериваты соответствующих основных рангов. Для поименной номенклатуры основных и производных рангов приняты суффиксы линнеевской системы.

Изменения в ранговой иерархии вирусных таксонов базировались на прогрессе от их традиционной сегрегации на основе фенотипа до многоступенчатого процесса, включающего геномные характеристики с особым вниманием к сравнительному анализу последовательностей консервативных генов и белков, филогении генов, их синтезу и общему содержанию, с учетом других молекулярных признаков [12]. Для иллюстрации принятых изменений в таблице приведено иерархическое положение некоторых актуальных вирусов.

Как следует из приведенных примеров, дивергенция вирусов прогрессивно возрастает внутри иерархического кластера от базального (сфера) до апикального (вид) ранга (сравнить представителей сферы *Riboviria*). Далеко не все вирусы имеют полное заселение по производным рангам (сравнить вирусы африканской чумы свиней, гриппа птиц и SARS-CoV-2). Остается много нерешенных вопросов ввиду недостаточной характеристики отдельных вирусов на уровне макроэволюционной ранговой принадлежности, поэтому их таксономия, так же как и во всем органическом мире, – процесс динамичный и непрерывный.

В частности, семейство *Asfarviridae* отнесено к отряду *Asfuvirales* класса *Pokkesviricetes* и рангам выше (см. табл.). Однако, помимо официальной номенклатуры, обсуждаемым остается включение семейства уникального вируса африканской чумы свиней в предполагаемый отряд *Megavirales*, составляемый из членов монофилетической, но неоднородной группы крупных ядерно-цитоплазматических дезоксирибовирусов, ранее называемых гирусы, в которую, наряду с ним, входили вирусы оспы, иридо-, фико-, мими- и другие представители сходных семейств [1]. При постоянном открытии новых гигантских вирусов (пандоровирусы, фаустовирусы, молливирусы и др.) эта группа, вероятно, будет увеличиваться в ближайшем будущем и таксономия ее членов остается дискуссионной [13].

Международный комитет по таксономии вирусов как учреждение вирусологического отделения Международного союза микробиологических обществ (International Union of Microbiological Societies, IUMS) осуществляет надзор за официальной классификацией вирусов и номенклатурой таксонов. Поскольку эта глобальная организация имеет добровольный, саморегулируемый и некоммерческий статус, ее допуска-



Рис. 1. Простая древовидная диаграмма показывает химерное полифилетическое происхождение вирусов из генов репликации, существовавших до последнего универсального общего предка, и структурных генов, возникших после него. Древние предки мобильных генетических элементов являются предшественниками генов репликации вирусов, а также современных «сиротских» репликонов (плазмид, вирионов и других трансмиссивных генетических элементов). Структурные компоненты вирусов кодировались генами более позднего периода [10]

Fig. 1. A simple tree diagram showing the chimeric origin of viruses from pre-LUCA replication genes and post-LUCA structural genes. Ancient MGE ancestors replace ancient cells, reflecting the origin of virus replication genes from MGEs. The evolution of modern plasmids and transposons from ancient MGEs is also depicted [10]

ются, помимо официальной таксономии, возможные классификации вирусов вне таксономической компетенции МКТВ.

Например, общепризнана и широко применяется неиерархическая классификация Д. Балтимора, распределяющая вирусы на семь классов в соответствии с типом их генома и реализацией генетической информации: ДНК-содержащие вирусы с двуспиральным, односпиральным геномом или реплицирующиеся через односпиральную РНК и РНК-содержащие вирусы с двуспиральным, односпиральным геномом с положительной, негативной цепью или реплицирующиеся путем обратной транскрипции [14]. Для практической эпидемиологии безусловно важна реальная филодинамическая систематика вирусов на основе паразитосистемных и иных биосистемных принципов с распределением по таким экологическим категориям, как резервуары, амплификаторы, источники инфекции, трансмиссия. Среди прочих существующих и возможных неиерархических классификаций чрезвычайно интересны и полезны были бы приемы систематизации, основанные на моделях вирусного морфогенеза и морфологии, где особенно практически значимы с точки зрения устойчивости вирусов вне организма природа и механизмы формирования икосаэдральных капсидных структур.

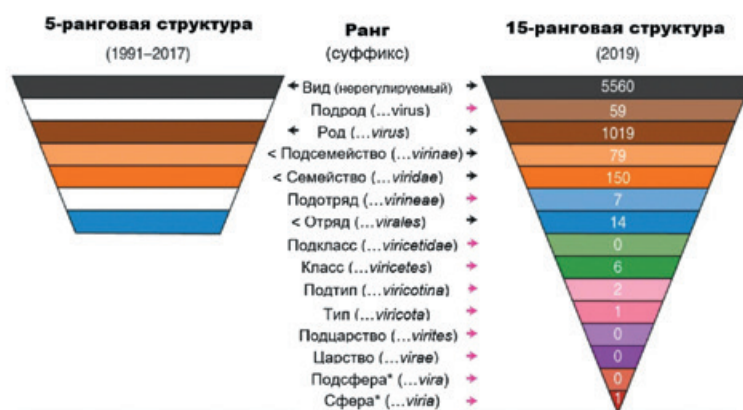


Рис. 2. Таксономические ранги предыдущей, новой ранговых структур и количество таксонов вирусов (показано белым шрифтом на 15-ранговой структуре). Черные стрелки обозначают ранги, общие для обеих структур, розовые стрелки – ранги, составляющие новую структуру [12]

*Англоязычные наименования высших рангов Subrealm и Realm могут транслитерироваться, в данном случае предлагается их перевод

Fig. 2. The previous and the new taxonomic ranks and the number of taxa (shown in white font on the 15-rank structure). Black arrows mean ranks common to both structures; pink arrows denote ranks introduced in the 15-rank structure [12]

Таблица

Современная классификация вирусов – возбудителей некоторых социально значимых инфекций в 15-ранговой таксономической иерархии [12]

Table

Current classification of the viruses causing some infections of social importance in the 15-rank taxonomic hierarchy [12]

Ранги	Вирусы					
	Африканской чумы свиней	Лейкоза КРС	Гриппа птиц	Бешенства	Ящура	SARS-CoV-2
Вид	<i>African swine fever virus</i>	<i>Bovine leukemia virus*</i>	<i>Influenza A virus**</i>	<i>Rabies lyssavirus***</i>	<i>Foot-and-mouth-disease virus</i>	<i>Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus****</i>
Подрод	–	–	–	–	–	<i>Sarbecovirus</i>
Род	<i>Asfivirus</i>	<i>Deltaretrovirus</i>	<i>Alphainfluenzavirus</i>	<i>Lyssavirus</i>	<i>Aphthovirus</i>	<i>Betacoronavirus</i>
Подсемейство	–	–	–	–	–	<i>Orthocoronavirinae</i>
Семейство	<i>Asfarviridae</i>	<i>Retroviridae</i>	<i>Orthomyxoviridae</i>	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>Picornaviridae</i>	<i>Coronaviridae</i>
Подотряд	–	–	–	–	–	<i>Cornidovirineae</i>
Отряд	<i>Asfuvirales</i>	<i>Ortervirales</i>	<i>Articulavirales</i>	<i>Mononegavirales</i>	<i>Picornavirales</i>	<i>Nidovirales</i>
Покласс	–	–	–	–	–	–
Класс	<i>Pokkesviricetes</i>	<i>Revtraviricetes</i>	<i>Insthoviricetes</i>	<i>Monjiviricetes</i>	<i>Pisoniviricetes</i>	<i>Pisoniviricetes</i>
Подтип	–	–	<i>Polyploviricotina</i>	<i>Haploviricotina</i>	–	–
Тип	<i>Nucleocyotiviricota</i>	<i>Artverviricota</i>	<i>Negarnaviricota</i>	<i>Negarnaviricota</i>	<i>Pisuviricota</i>	<i>Pisuviricota</i>
Подцарство	–	–	–	–	–	–
Царство	<i>Bamfordvirae</i>	<i>Pararnavirae</i>	<i>Orthornavirae</i>	<i>Orthornavirae</i>	<i>Orthornavirae</i>	<i>Orthornavirae</i>
Подсфера	–	–	–	–	–	–
Сфера	<i>Varidnaviria</i>	<i>Riboviria</i>	<i>Riboviria</i>	<i>Riboviria</i>	<i>Riboviria</i>	<i>Riboviria</i>

* синонимы *Bovine leucosis virus*, *Bovine type C oncovirus* (synonyms *Bovine leucosis virus*, *Bovine type C oncovirus*);

** серотип *Influenza A virus subtype H5N1* (serotype *Influenza A virus subtype H5N1*);

*** члены *Rabies virus*, *Arctic rabies virus* (members *Rabies virus*, *Arctic rabies virus*);

**** без ранга SARS-CoV-2 (no rank SARS-CoV-2).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Макаров В. В., Бондаренко В. М. Гирусы. *Бюллетень Оренбургского научного Центра УрО РАН (электронный журнал)*. 2012; 2: 1–12. Режим доступа: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2012-2/Articles/Makarov-Bondarenko-2012-2.pdf>.
2. Suzan-Monti M., La Scola B., Raoult D. Genomic and evolutionary aspects of *Mimivirus*. *Virus Res.* 2006; 117 (1): 145–155. DOI: 10.1016/j.virusres.2005.07.011.
3. Лурия С., Дарнелл Дж. Общая вирусология. Пер. с англ. Л. Б. Меклера. М.: Мир; 1970. 424 с.
4. Claverie J.-M. Viruses take center stage in cellular evolution. *Genome Biol.* 2006; 7 (6):110. DOI: 10.1186/gb-2006-7-6-110.
5. Claverie J.-M., Abergel C., Ogata H. Mimivirus. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2009; 328: 89–121. DOI: 10.1007/978-3-540-68618-7_3.
6. Danovaro R., Dell'Anno A., Corinaldesi C., Magagnini M., Noble R., Tamburini C., Weinbauer M. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. *Nature*. 2008; 454 (7208): 1084–1087. DOI: 10.1038/nature07268.
7. Angly F. E., Felts B., Breitbart M., Salamon P., Edwards R., Carlson C., et al. The marine viromes of four oceanic regions. *PLoS Biol.* 2006; 4 (11):e368. DOI: 10.1371/journal.pbio.0040368.
8. Bell P. J. The viral eukaryogenesis hypothesis: a key role for viruses in the emergence of eukaryotes from a prokaryotic world environment. *Ann. NY Acad. Sci.* 2009; 1178: 91–105. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04994.x.
9. Мёллинг К. Вирусы: скорее друзья, чем враги. М.: Альпина Паблишер; 2018. 591 с.
10. Harris H. M. B., Hill C. A place for viruses on the tree of life. *Front. Microbiol.* 2021; 11:604048. DOI: 10.3389/fmicb.2020.604048.
11. Кунин Е. В. Логика случая. О природе и происхождении биологической эволюции. Пер. с англ. М.: Центрполиграф; 2014. 528 с.
12. International Committee on Taxonomy of Viruses Executive Committee. The new scope of virus taxonomy: partitioning the virosphere into 15 hierarchical ranks. *Nat. Microbiol.* 2020; 5 (5): 668–674. DOI: 10.1038/s41564-020-0709-x.
13. Blome S., Franzke K., Beer M. African swine fever – A review of current knowledge. *Virus Res.* 2020; 287:198099. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.198099.
14. Baltimore D. Expression of animal virus genomes. *Bacteriol. Rev.* 1971; 35 (3): 235–241. DOI: 10.1128/br.35.3.235-241.1971.
- at: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2012-2/Articles/Makarov-Bondarenko-2012-2.pdf>. (in Russ.)
2. Suzan-Monti M., La Scola B., Raoult D. Genomic and evolutionary aspects of *Mimivirus*. *Virus Res.* 2006; 117 (1): 145–155. DOI: 10.1016/j.virusres.2005.07.011.
3. Luria S. E., Darnell J. E., Jr. General Virology. 2nd ed. New York: Wiley; 1967. 528 p.
4. Claverie J.-M. Viruses take center stage in cellular evolution. *Genome Biol.* 2006; 7 (6):110. DOI: 10.1186/gb-2006-7-6-110.
5. Claverie J.-M., Abergel C., Ogata H. Mimivirus. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2009; 328: 89–121. DOI: 10.1007/978-3-540-68618-7_3.
6. Danovaro R., Dell'Anno A., Corinaldesi C., Magagnini M., Noble R., Tamburini C., Weinbauer M. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. *Nature*. 2008; 454 (7208): 1084–1087. DOI: 10.1038/nature07268.
7. Angly F. E., Felts B., Breitbart M., Salamon P., Edwards R., Carlson C., et al. The marine viromes of four oceanic regions. *PLoS Biol.* 2006; 4 (11):e368. DOI: 10.1371/journal.pbio.0040368.
8. Bell P. J. The viral eukaryogenesis hypothesis: a key role for viruses in the emergence of eukaryotes from a prokaryotic world environment. *Ann. NY Acad. Sci.* 2009; 1178: 91–105. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04994.x.
9. Moelling K. Viruses: More Friends than Foes. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.; 2017. 416 p.
10. Harris H. M. B., Hill C. A place for viruses on the tree of life. *Front. Microbiol.* 2021; 11:604048. DOI: 10.3389/fmicb.2020.604048.
11. Koonin E. V. The Logic of Chance. The Nature and Origin of Biological Evolution. Upper Saddle River, N.J.: Pearson Education Pearson Education, Inc.; 2012. Available at: <http://evolocus.com/Textbooks/Koonin2011.pdf>.
12. International Committee on Taxonomy of Viruses Executive Committee. The new scope of virus taxonomy: partitioning the virosphere into 15 hierarchical ranks. *Nat. Microbiol.* 2020; 5 (5): 668–674. DOI: 10.1038/s41564-020-0709-x.
13. Blome S., Franzke K., Beer M. African swine fever – A review of current knowledge. *Virus Res.* 2020; 287:198099. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.198099.
14. Baltimore D. Expression of animal virus genomes. *Bacteriol. Rev.* 1971; 35 (3): 235–241. DOI: 10.1128/br.35.3.235-241.1971.

REFERENCES

1. Makarov V. V., Bondarenko V. M. Giruses. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN (elektronnyi zhurnal)*. 2012; 2: 1–12. Available

Поступила в редакцию / Received 05.08.2021
Поступила после рецензирования / Revised 27.08.2021
Принята к публикации / Accepted 10.09.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Макаров Владимир Владимирович, доктор биологических наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия.

Буцацкий Леонид Петрович, доктор биологических наук, профессор, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев, Украина.

Vladimir V. Makarov, Doctor of Science (Biology), Professor, RUDN University, Moscow, Russia.

Leonid P. Buchatsky, Doctor of Science (Biology), Professor, Institute of Fisheries NAAS, Kyiv, Ukraine.



К поиску причин сенсibilизации крупного рогатого скота к ППД-туберкулину для млекопитающих

М. О. Баратов¹, П. С. Гусейнова²

Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» (Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»), Республика Дагестан, г. Махачкала, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-8261-5038>, e-mail: alama500@rambler.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-8417-120X>, e-mail: patimat.guseinova1972@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Несмотря на большое количество работ, посвященных характеристике предложенных методов диагностики туберкулеза крупного рогатого скота и механизмам проявления неспецифических реакций у больных и здоровых животных, многие аспекты этой проблемы требуют дополнительного изучения. До настоящего времени многие специалисты придерживаются точки зрения, сформулированной при изучении причин псевдоаллергических реакций, согласно которой возбудители актиномикозной инфекции, трематодозной инвазии и др. могут быть причиной сенсibilизации макроорганизма животных к ППД-туберкулину для млекопитающих. Возможность сенсibilизации организма крупного рогатого скота к туберкулину *Actinomyces bovis* изучали на 240 больных актиномикозом животных из 3473 исследованных. Из числа больных только 11 голов (4,6%) реагировали на ППД-туберкулин для млекопитающих. При бактериологическом исследовании материала от убитых с диагностической целью животных (реагировавших и не реагировавших на туберкулин с подтвержденным на актиномикоз патолого-анатомическим диагнозом) изолированы культуры кислотоустойчивых нетуберкулезных микобактерий. Отсутствие алергизирующих к туберкулину свойств у *Actinomyces bovis* было подтверждено результатами эксперимента, проведенного на 628 животных одного из молочных комплексов, где только у одной из 96 (15,2%) реагирующих на туберкулин коров выявили актиномикоз. Проведенные клинические исследования с высокой степенью достоверности ($P < 0,005$) позволили установить отсутствие взаимосвязи между аллергией на ППД-туберкулин для млекопитающих и актиномикозным инфекционным процессом. Полученные результаты свидетельствуют о несовершенстве дифференциальной диагностики, и дальнейшие исследования в этой области должны внести существенный вклад в развитие представлений о неспецифической сенсibilизации организма крупного рогатого скота к туберкулину.

Ключевые слова: туберкулез, актиномикоз, сенсibilизация, диагностика, дифференциация, парааллергия, псевдоаллергические реакции, микобактерии, атипичные кислотоустойчивые микобактерии

Для цитирования: Баратов М. О., Гусейнова П. С. К поиску причин сенсibilизации крупного рогатого скота к ППД-туберкулину для млекопитающих. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 271–276. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-271-276.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

More on search for causes of sensitization to tuberculin PPD for mammals in cattle

M. O. Baratov¹, P. S. Huseynova²

Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-8261-5038>, e-mail: alama500@rambler.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-8417-120X>, e-mail: patimat.guseinova1972@mail.ru

SUMMARY

Despite the large number of papers dealing with the description of proposed methods for bovine tuberculosis diagnosis and mechanisms of non-specific reaction development in diseased and healthy animals, various aspects require further study. Many specialists are still of the view, formulated when studying causes of pseudoallergic reactions, that the agents of actinomycosis, trematode infections etc. can cause sensitization of the animal body to tuberculin PPD for mammals. The possibility of sensitization of cattle body to *Actinomyces bovis* tuberculin was studied in 240 animals identified as actinomycosis diseased among 3,473 tested animals. Only 11 (4.6%) of the total number of diseased animals were reactors to tuberculin PPD for mammals. During bacteriological tests of material from animals euthanized for diagnostic purposes (tuberculin reactors and nonreactors with a confirmed postmortem diagnosis of actinomycosis), acid-tolerant nontuberculous mycobacterium (NTM) cultures were isolated. The results of the experiment conducted in 628 cows of a dairy holding confirmed that *Actinomyces bovis* lacks

tuberculin-associated allergenicity: actinomycosis was detected only in one of 96 (15.2%) tuberculin reactors. The conducted clinical tests with high significance level ($P < 0.005$) showed that there is no association between allergic reaction to tuberculin PPD for mammals and actinomycosis infection. The obtained results are indicative of imperfections in differential diagnosis, and further studies in this field should significantly contribute to gaining a better insight into non-specific sensitization of cattle body to tuberculin.

Keywords: tuberculosis, actinomycosis, sensitization, diagnosis, differentiation, parallergy, pseudoallergic reactions, mycobacteria, atypical acid-tolerant mycobacteria

For citation: Baratov M. O., Huseynova P. S. More on search for causes of sensitization to tuberculin PPD for mammals in cattle. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 271–276. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-271-276.

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

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

ВВЕДЕНИЕ

Неспецифические реакции на ППД-туберкулин для млекопитающих являются проблемой, которая охватила животноводство в мировом масштабе и, несмотря на предложенные многочисленные методы дифференциации, полностью не решена. В настоящее время, по официальным статистическим данным, в том числе Всемирной организации здравоохранения животных, количество реагирующих на туберкулин животных в мире составляет до 54% от числа исследованных, в странах Содружества – от 12,6 до 62,4%, в субъектах РФ – от 7,8 до 49,3% [1–4].

Среди многообразия микрофлоры, вызывающей сенсибилизацию макроорганизма животных к туберкулину, наиболее признанными как по количественному содержанию, так и качественной характеристике вызываемой кожной реакции являются атипичные кислотоустойчивые микобактерии II, III и IV групп (согласно классификации E. Runyon). Значительную роль в аллергизации организма могут играть и кислотоустойчивые сапрофиты [3, 5–10].

По современным представлениям сенсибилизирующими организм животных к туберкулину свойствами обладают и близкие к микобактериям микроорганизмы: коринебактерии, нокардии и родококки. Важной характеристикой этих микроорганизмов являются родовая и видовая специфичность к микобактериям и общность группоспецифических антигенов, выявляемых в перекрестных реакциях. В настоящее время интерес к этим микроорганизмам расширился в связи с частотой изолирования их из биоматериала реагирующих на туберкулин животных. Экспериментальные и клинические данные показывают, что культуры коринебактерии выделяют в 28,6% случаев [6, 11, 12], нокардий – в 16,9% случаев [12] и родококки – в 26,3% случаев [11, 13–15].

Нет сомнения в том, что среди причин неспецифической сенсибилизации организма животных ведущее место занимают парааллергические процессы. В то же время характерные реакции могут быть обусловлены и другими причинами, не имеющими общности с микобактериями, различного рода гнойными процессами,

вызываемыми транзиторными микроорганизмами, паразитарными болезнями (трематодозами), стрессовыми факторами, белковой нагрузкой [3, 4, 9, 16].

Связывают аллергию также с различного рода патологией стельности, кормлением животных несбалансированным по микро- и макроэлементам рационом, кормами, пораженными плесневыми грибами, и др. [16–18].

В то же время в ходе дальнейшего изучения проявления аллергии на туберкулин у животных, больных трихофитозом, дикроцелиозом, парамфистоматозом, эхинококкозом, не выявлено присутствия закономерности. Не прослеживается взаимосвязь между сенсибилизацией к туберкулину и стрессовыми факторами, в частности, у коров в пред- и послеродовых периодах [19–21].

Представлены также убедительные экспериментальные доказательства отсутствия аллергии у животных после скармливания карбамида [16, 22].

При сравнении результатов копрологических исследований проб от неблагополучных по фасциолезу животных с результатами внутрикожных туберкулиновых реакций получены взаимоисключающие данные. Больные фасциолезом животные реагировали на туберкулин в 5,8% случаев от числа исследованных, у 22% реагирующих на туберкулин особей результаты копрологических исследований были отрицательными [5, 7].

В настоящее время расширился интерес к изучению возможности сенсибилизации организма животных к туберкулину микроорганизмами, имеющими общие родоспецифические данные с микобактериями, в частности *Actinomyces bovis*, представителем рода *Actinomyces* порядка *Actinomycetales* с характерной высокой популяционно генетической однородностью к роду *Mycobacterium* [2, 3, 11, 16, 18, 23].

Многие специалисты сегодня придерживаются точкой зрения, сформулированной при изучении генетических характеристик этих микроорганизмов, согласно которой эволюционная общность и возможное наличие общих антигенов могут обусловить сенсибилизацию к туберкулину [24, 25].

Таблица 1

Распределение реагирующих на туберкулин животных по уровню заболеваемости актиномикозом

Table 1

Distribution of tuberculin reactor animals by actinomycosis occurrence level

№ п/п	Наименование хозяйства	Исследовано животных, гол.	Реагировало на внутрикожную пробу		Болело актиномикозом		В том числе на туберкулин			
			количество, гол.	%	количество, гол.	%	реагировало		не реагировало	
1	СПК «Орджоникидзе»	740	–	–	43	5,8	–	–	43	100,0
2	СПК «Ленина»	859	78	9,1	45	5,2	2	4,4	43	95,6
3	КФХ «Параульский»	300	8	2,7	19	6,3	1	5,3	18	94,7
4	СПК «Буйнакский»	500	66	13,2	69	13,8	5	7,2	64	92,8
5	СПК «Гелинский»	300	48	16,0	59	19,7	3	5,1	56	94,9
6	КФХ «Рассвет»	543	–	–	4	0,7	–	–	4	100,0
7	КФХ «Таврида»	231	–	–	1	0,4	–	–	1	100,0
	Всего	3473	232	6,7	240	6,9	11	4,6	229	95,4

По данным ряда клинических исследований, больные актиномикозом животные реагируют на туберкулин для млекопитающих. В то же время найти экспериментально подтвержденные и лабораторно обоснованные результаты исследования не удалось.

Целью настоящего исследования было экспериментальное обоснование возможной взаимосвязи между туберкулиновыми реакциями и актиномикозом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клинические исследования крупного рогатого скота проводили в семи хозяйствах Карабудахкентского и Новоласкского районов Республики Дагестан на 3473 животных разных половозрастных групп.

Для оценки сенсibilизирующих к туберкулину свойств у *Actinomyces bovis* провели исследование 628 голов крупного рогатого скота в одном из молочных комплексов Бабаюртовского района республики.

Аллергические исследования крупного рогатого скота осуществляли согласно «Ветеринарным правилам осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов туберкулеза», утвержденным приказом Минсельхоза России № 534 от 08.09.2020¹.

Идентификацию выделенных культур микобактерий проводили по ГОСТ 26072-89 «Животные и птица сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики туберкулеза»² и ГОСТ 27318-87 «Животные сельскохозяйственные. Методы идентификации атипичных микобактерий»³.

Обследование на актиномикоз включало осмотр животных с оценкой клинических проявлений, пальпацию пораженного участка, а также результаты лабораторных исследований тканей, отобранных из инфи-

цированных областей тела животного. Обязательным условием, подтверждающим диагноз, считалось изолирование из материала *Actinomyces bovis*. В случае выявления новообразования неизвестной этиологии проводили гистологический анализ в соответствии с общепринятыми методиками.

При статистической обработке полученных данных использовали параметрические методы, достоверность результатов определяли с помощью критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В обследованных хозяйствах проведенными аллергическими исследованиями установлена неспецифическая сенсibilизация животных к ППД-туберкулину для млекопитающих. Частота обнаружения реакции варьировала от 2,7 до 16,0%. Доля больных актиномикозом животных составляла от 0,4 до 19,7% (табл. 1).

Как показали результаты исследования, из 3473 животных на внутрикожное введение туберкулина реагировало 232 (6,7%), количество больных актиномикозом особей составляло 240 (6,9%).

Из числа больных актиномикозом положительная реакция на введение ППД-туберкулина выявлена только у 11 особей (4,6%), 229 животных (95,4%) не реагировали.

В СПК «Орджоникидзе» из 740 исследованных голов крупного рогатого скота только 43 (5,8%) болели актиномикозом, ни в одном из случаев реагирующих на туберкулин не выявлено. Аналогичные результаты получены в КФХ «Рассвет» и КФХ «Таврида» Карабудахкентского района.

Для патолого-анатомического исследования произвели контрольный убой больных актиномикозом животных: 11 голов – из числа реагировавших на туберкулин и 10 голов – с отрицательными результатами аллергической пробы (табл. 2).

В результате проведенных исследований из биоматериала, полученного от положительно реагиовавших на туберкулин животных, выделена культура

¹ <https://docs.cntd.ru/document/565721619>.

² <https://docs.cntd.ru/document/1200025492>.

³ <https://base.garant.ru/5917269>.

Таблица 2

Результаты патолого-анатомического и бактериологического исследований биоматериала от больных актиномикозом животных

Table 2

The results of postmortem examination and bacteriological tests of biomaterial from actinomycosis diseased animals

Больные актиномикозом животные	Количество животных, гол.	Патолого-анатомический диагноз	Результаты бактериологического анализа
Реагировавшие на туберкулин	11	актиномикоз	выделено 7 штаммов культур <i>Mycobacterium scrofulaceum</i>
Не реагировавшие на туберкулин	10	актиномикоз	выделено 2 штамма культур <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> и один – <i>Mycobacterium phlei</i>

Mycobacterium scrofulaceum, удалось идентифицировать 7 штаммов (63,6%). Это свидетельствует о том, что сенсибилизация организма вызвана атипичными микобактериями. У 4 особей достоверную причину сенсибилизации выявить не удалось, что является косвенным доказательством несовершенства предложенных методов диагностики туберкулеза животных, в данном случае лабораторных. Это дает возможность предположить, что причиной сенсибилизации может быть наличие в организме крупного рогатого скота углеводородокисляющих микроорганизмов (коринебактерий, нокардий, родококков), изолирование которых требует проведения специальных исследований.

С другой стороны, выделение 2 штаммов *Mycobacterium scrofulaceum* и одного штамма из числа сапрофитных микобактерий (*Mycobacterium phlei*) из образцов биоматериала животных с отрицательными результатами аллергической пробы нужно рассматривать как подтверждение существующего мнения, что атипичные микобактерии не всегда могут вызывать сенсибилизацию организма животных к туберкулину.

Имеющиеся в литературе многочисленные данные, а также полученные в ходе исследования результаты неопровержимо свидетельствуют о том, что кислотоустойчивые нетуберкулезные микобактерии могут длительное время находиться в организме в скрытой форме, ничем себя не проявляя, этим и объясняются отрицательные результаты лабораторных исследований 8 из 10 животных.

Для оценки сенсибилизирующих к туберкулину свойств у *Actinomyces bovis* провели исследование 628 голов крупного рогатого скота в молочном комплексе в Бабаюртовском районе республики. Из числа исследованных на туберкулин реагировало 96 (15,2%) при отсутствии больных актиномикозом животных.

Сопоставляя клинические признаки и лабораторные данные по исследованию животных на актиномикоз с результатами аллергических исследований, можно сделать вывод, что полученные результаты с высокой степенью достоверности ($P < 0,005$) свидетельствуют об отсутствии закономерности между этими явлениями.

ОБСУЖДЕНИЕ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований согласуются с многочисленными литературными данными по изучению специфичности ППД-туберкулина для млекопитающих, свидетельствующими о выраженной специфичности аллергена к гомологичной сенсибилизации.

Отмечаются менее интенсивные по проявлению и кратковременные по длительности реакции на туберкулин у животных, зараженных кислотоустойчивыми нетуберкулезными микобактериями, а также микобактериоподобными (углеводородокисляющими) микроорганизмами (коринебактерии, нокардии, родококки и др.).

Согласно существующей статистике, нередко являются перекрестные реакции, что свидетельствует о наличии высокой степени структурного однообразия антигенов и возникает необходимость использования более результативных методов дифференциальной диагностики (патолого-анатомический, бактериологический).

Важно отметить, что в ряде случаев отрицательные результаты лабораторных исследований ставят под сомнение результативность применяемого метода диагностики, так как микобактериям свойственна постоянная изменчивость (по мнению большинства исследователей, за счет антигенного дрейфа), приводящая к появлению новых серологических патогенных вариантов.

В связи с этим и с учетом несовершенства культурального метода исследования для изолирования часто встречаемых измененных форм микобактерий (L-формы, сферопласты, протопласты, фильтрующие формы и т. д.), а также для обнаружения скрытно персистирующих форм следует использовать комплекс диагностических методов, в том числе молекулярно-генетические (ИФА, ПЦР и др.).

При определении причин псевдоаллергических реакций, в разрезе полученных и представленных в данной работе неопровержимых данных, необходимо учитывать, что при актиномикозе и паразитарных поражениях характерным является наличие смешанных клинических признаков инфекции. В частности, атипичные микобактерии (*Mycobacterium* subsp.) и микобактериоподобные микроорганизмы (*Corynebacterium*, *Nocardia* и *Rhodococcus* subsp.), являясь типичными представителями микрофлоры желудочно-кишечного тракта, в условиях снижения иммунного статуса животных могут стать причиной сенсибилизации организма к туберкулину.

Результаты исследования согласуются с ранее полученными данными по определению наличия взаимосвязи между проявлением реакций на туберкулин и инвазионными болезнями (трихофитоз, эхинококкоз, дикроцелиоз, фасциолез и др.), где показано отсутствие достоверной корреляции между ними.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Авилов В. М., Пылин В. Ф., Овдиенко Н. П., Ведерников В. А. Больше внимания профилактике и борьбе с туберкулезом животных. *Ветеринария*. 1997; 8: 3–9.
- Донченко А. С., Сетедин В. А., Корж А. Н., Будакова З. З. Сравнительная оценка некоторых диагностических тестов при экспериментальной сенсibilизации КРС различными видами микобактерий. *Научно-технический бюллетень ВАСХНИЛ*. 1984; 30: 15–19.
- Кузин А. И., Семина Л. К. Вопросы диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2 (9): 48. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_9165624_80364358.pdf.
- Найманов А. Х. Проблемы диагностики и профилактики туберкулеза КРС в современных условиях. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2 (9): 18–23. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_9165613_19314706.pdf.
- Базарбаев М., Сырым Н. С., Елекеев Т. А., Садилова Д. Р., Сансызбай А. Р., Басыбеков С. Ж., Еспембетов Б. А. Сенситивы для дифференциации неспецифических реакций на туберкулин для млекопитающих. *Вестник Алтайского ГАУ*. 2016; 6 (140): 118–125. Режим доступа: <http://www.asau.ru/vestnik/2016/6/118-125.pdf>.
- Баратов М. О., Ахмедов М. М., Сакидибиров О. П. К выяснению причин неспецифических реакций на туберкулин. *Ветеринарный врач*. 2014; 2: 24–28. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_21422421_32608163.pdf.
- Кассич Ю. Я., Кочмарский В. А., Тихонов П. М., Завгородний А. И. Изучение сенсibilизирующих и патогенных свойств атипичных микобактерий. *Ветеринария*. 1989; 4: 13–15.
- Кузин А. И., Семина Л. К. К этиологии парааллергических туберкулиновых реакций и динамике их возникновения у крупного рогатого скота. *Профилактика и лечение болезней сельскохозяйственных животных: тезисы докладов Научно-производственной конференции ветеринарных работников*. Вологда; 1986; 8–9.
- Юдин Г. А. Причины, распространение, дифференциация и профилактика неспецифических реакций на туберкулин. *Ветеринария*. 1987; 12: 29–32.
- Tsukamura M. Differentiation between the genera *Mycobacterium*, *Rhodococcus* and *Nocardia* by susceptibility to 5-fluorouracil. *J. Gen. Microbiol.* 1981; 125 (1): 205–208. DOI: 10.1099/00221287-125-1-205.
- Бердичевская М. В. Экология углеводородокисляющих бактерий нефтяных пластов Пермского Прикамья: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.; 1983. 28 с. Режим доступа: <https://viewer.rusneb.ru/ru/rsl01000797175?page=1&rotate=0&theme=white>.
- Нестеренко О. А., Квасников Е. И., Ногина Т. М. Нокардиоподобные и коринеподобные бактерии. Киев: Наукова Думка; 1985. 334 с.
- Баратов М. О., Ахмедов М. М., Сакидибиров О. П., Дервишов Д. А. Сенсibilизирующие свойства коринеподобных микобактерий к туберкулину. *Ветеринарная медицина*. 2011; 1: 31–33.
- Лазовская А. Л. Идентификация культур микобактерий, выросших на среде с солицилатом натрия. *Проблемы туберкулеза*. 1994; 72 (5): 45–46.
- Wolinsky E., Ryneerson T. K. Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1968; 97 (6): 1032–1037. DOI: 10.1164/arrd.1968.97.6P1.1032.
- Латышев А. С. О природе сомнительных и неспецифических реакций на туберкулин у КРС. *Научные труды Новосибирской НИВС*. 1971; 4: 179–181.
- Мартма О. В. Атипичные микобактерии и их диагностическое и эпизоотическое значение при туберкулезе КРС: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Тарту; 1971. 46 с.
- Мартма О. В., Йыгисор Х. Комплексная дифференциация парааллергических туберкулиновых реакций. *Сборник научных трудов Эстонского НИИ животноводства и ветеринарии*. 1982; 53: 46–53.
- Гулюкин М. И., Найманов А. Х., Овдиенко Н. П., Ведерников В. А., Верховский О. А., Толстенко Н. Г. и др. Методические наставления по проведению исследований при микобактериозах животных. М.: ГНУ ВНИИЭВ им. Я. Р. Коваленко. 2012. 85 с.
- Леви Д. Т., Яблокова Т. Б., Жукова Л. Н. Оптимизация метода туберкулинодиагностики при использовании препарата ППД, БЦЖ. *Проблемы туберкулеза*. 1987; 65 (12): 5–8.
- Azuma I., Uchida A., Taniyama T., Yamamura Y., Shoji K. The mycolic acids of *Mycobacterium rhodochrous* and *Nocardia corallina*. *Biken J.* 1974; 17 (1): 1–9. PMID: 4854962.
- Khuller G. K., Taneja R., Kaur S., Verma J. N. Lipid composition and virulence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1982; 60 (Pt. 5): 541–547. DOI: 10.1038/icb.1982.58.
- Колоскова Э. Л. Патоморфологические изменения у животных, зараженных разными видами микобактерий: автореф. дис. ... канд. вет. наук. М.; 2007. 22 с. Режим доступа: <https://viewer.rusneb.ru/ru/rsl01003071121?page=1&rotate=0&theme=white>.
- Гертман М. И. Значение L-форм микобактерий в диагностике туберкулеза крупного рогатого скота. *Интенсификация молочного скотоводства и пути увеличения производства молока: тезисы докладов научно-практической конференции*. Челябинск; 1986; 30–31.
- Голышевская В. И., Ахунов Ш. Б., Бибиргал Е. А. Совершенствование методов выделения измененных форм микобактерий туберкулеза у больных со стабильными деструктивными изменениями в легочной ткани. *Проблемы туберкулеза*. 1987; 65 (10): 61–65.

REFERENCES

- Avilov V. M., Pylin V. F., Ovdienko N. P., Vedernikov V. A. Bol'she vni-maniya profilaktike i bor'be s tuberkulezom zhivotnykh = More attention to animal tuberculosis prevention and control. *Veterinariya*. 1997; 8: 3–9. (in Russ.)
- Donchenko A. S., Setedin V. A., Korzh A. N., Budakova Z. Z. Sravnitel'naya otsenka nekotorykh diagnosticheskikh testov pri eksperimental'nai sensibilizatsii KRS razlichnymi vidami mikobakterii = Comparative assessment of several diagnostic tests during experimental sensitization of cattle with different mycobacteria. *Nauchno-tehnicheskii byulleten' VASKhNIL*. 1984; 30: 15–19. (in Russ.)
- Kuzin A. I., Semina L. K. Voprosy diagnostiki tuberkuleza krupnogo rogatogo skota = Issues of bovine tuberculosis diagnosis. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 1–2 (9): 48. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_9165624_80364358.pdf. (in Russ.)
- Naimanov A. Kh. Problemy diagnostiki i profilaktiki tuberkuleza KRS v sovremennykh usloviyakh = Problems of bovine tuberculosis diagnosis and prevention under present day conditions. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 1–2 (9): 18–23. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_9165613_19314706.pdf. (in Russ.)
- Bazarbayev M., Syrym N. S., Yelekeyev T. A., Sadikova D. R., Sansyzbay A. R., Basybekov S. Zh., Yespembetov B. A. The sensitivities to differentiate non-specific responses in cattle to PPD-tuberculin for mammals. *Vestnik Altaiskogo SAU*. 2016; 6 (140): 118–125. Available at: <http://www.asau.ru/vestnik/2016/6/118-125.pdf>. (in Russ.)
- Baratov M. O., Ahmedov M. M., Sakidibirov O. P. On causes of non-specific reaction to tuberculin. *Veterinarian*. 2014; 2: 24–28. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_21422421_32608163.pdf. (in Russ.)
- Kassich Yu. Ya., Kochmarskii V. A., Tikhonov P. M., Zavgorodnii A. I. Izucheniye sensibiliziruyushchikh i patogennykh svoystv atipichnykh mikobakterii = Studies of sensitizing and pathogenic properties of atypical mycobacteria. *Veterinariya*. 1989; 4: 13–15. (in Russ.)
- Kuzin A. I., Semina L. K. K etiologii paraallergicheskikh tuberkulinyovykh reaktsii i dinamike ikh vozniknoveniya u krupnogo rogatogo skota = More on etiology of parallergic tuberculin reactions and dynamics of their occurrence in cattle. *Profilaktika i lechenie boleznei sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: tezisy dokladov Nauchno-proizvodstvennoi konferentsii veterinarnykh rabotnikov = Prevention and treatment of livestock diseases: abstracts for Research and Production Conference of Veterinary Specialists*. Vologda; 1986; 8–9. (in Russ.)
- Yudin G. A. Prichiny, rasprostraneniye, differentsiatsiya i profilaktika nespetsicheskikh reaktsii na tuberculin = Causes, occurrence, differentiation and prevention of non-specific reactions to tuberculin. *Veterinariya*. 1987; 12: 29–32. (in Russ.)
- Tsukamura M. Differentiation between the genera *Mycobacterium*, *Rhodococcus* and *Nocardia* by susceptibility to 5-fluorouracil. *J. Gen. Microbiol.* 1981; 125 (1): 205–208. DOI: 10.1099/00221287-125-1-205.
- Berdichevskaya M. V. Ekologiya uglevodorodokislyayushchikh bakterii nefyanykh plastov Permskogo Prikam'ya: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk = Ecology of hydrocarbon oxidizing bacteria of the oil reservoir of the Kama River Region (Perm Krai): author's abstract of Candidate of Science (Biology) thesis. Moscow; 1983. 28 p. Available at: <https://viewer.rusneb.ru/ru/rsl01000797175?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
- Nesterenko O. A., Kvasnikov E. I., Nogina T. M. Nokardiopodobnye i korinepodobnye bakterii = Nocardiaform- and coryneform-like bacteria. Kiev: Naukova Dumka; 1985. 334 p. (in Russ.)
- Baratov M. O., Akhmedov M. M., Sakidibirov O. P., Dervishov D. A. Sensibiliziruyushchie svoystva korinebakterii k tuberkulinu = Tuberculin sensitizing properties of coryneform bacteria. *Veterinarnaya meditsina*. 2011; 1: 31–33. (in Russ.)
- Lazovskaya A. L. Identifikatsiya kul'tur mikobakterii, vyrosших na srede s solitsilatom natriya = Identification of mycobacterium cultures grown in sodium salicylate supplemented medium. *Problemy tuberkuleza*. 1994; 72 (5): 45–46. (in Russ.)
- Wolinsky E., Ryneerson T. K. Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1968; 97 (6): 1032–1037. DOI: 10.1164/arrd.1968.97.6P1.1032.
- Latyshev A. S. O prirode somnitel'nykh i nespetsicheskikh reaktsii na tuberculin u KRS = On the nature of inconclusive and non-specific reactions to tuberculin in cattle. *Nauchnye trudy Novosibirskoi NIVS*. 1971; 4: 179–181. (in Russ.)

17. Martma O. V. Atipicheskiye mikobakterii i ih diagnosticheskoe i epizooticheskoe znachenie pri tuberkuleze KRS: avtoref. dis. ... d-ra vet. nauk = Atypical mycobacteria and their diagnostic and epizootic significance for bovine tuberculosis: thesis abstract Doctor of Science (Veterinary Medicine). Tartu; 1971. 46 p. (in Russ.)
18. Martma O. V., Iygisor Kh. Kompleksnaya differentsiatsiya paraallergicheskikh tuberkulinovykh reaktsii = Overall differentiation of parallel allergic tuberculin reactions. *Sbornik nauchnykh trudov Estonskogo NII zhivotnovodstva i veterinarii*. 1982; 53: 46–53. (in Russ.)
19. Gulyukin M. I., Naimanov A. Kh., Ovdienko N. P., Vedernikov V. A., Verkhovskii O. A., Tolstenko N. G., et al. Metodicheskie nastaveniya po provedeniyu issledovaniy pri mikobakteriozakh zhivotnykh = Methodical instructions for conducting studies in animal mycobacteriosis. Moscow: All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary. 2012. 85 p. (in Russ.)
20. Levi D. T., Yablokova T. B., Zhukova L. N. Optimizatsiya metoda tuberkulinodiagnostiki pri ispol'zovanii preparata PPD, BTsZh = Optimization of tuberculin diagnostic method using PPD, BCG preparations. *Problemy tuberkuleza*. 1987; 65 (12): 5–8. (in Russ.)
21. Azuma I., Uchida A., Taniyama T., Yamamura Y., Shoji K. The mycolic acids of *Mycobacterium rhodochrous* and *Nocardia corallina*. *Biken J*. 1974; 17 (1): 1–9. PMID: 4854962.
22. Khuller G. K., Taneja R., Kaur S., Verma J. N. Lipid composition and virulence of *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 1982; 60 (Pt. 5): 541–547. DOI: 10.1038/icb.1982.58.
23. Koloskova E. L. Patomorfologicheskie izmeneniya u zhivotnykh, zarazhennykh raznymi vidami mikobakterii: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk = Pathomorphological lesions in animals infected with different mycobacteria: author's abstract of Candidate of Science (Veterinary Medicine) thesis. Moscow: 2007. 22 p. Available at: <https://viewer.rusneb.ru/ru/rsl01003071121?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
24. Gertman M. I. Znachenie L-form mikobakterii v diagnostike tuberkuleza krupnogo rogatogo skota = The significance of L-forms of mycobacteria in bovine tuberculosis diagnosis. *Intensifikatsiya molochnogo skotovodstva i puti uvelicheniya proizvodstva moloka: tezisy dokladov nauchno-prakticheskoi konferentsii* = Intensification of dairy farming and ways to increase milk production: research-to-practice conference abstracts. Chelyabinsk; 1986; 30–31. (in Russ.)
25. Golyshevskaya V. I., Akhunov Sh. B., Bibirgal E. A. Sovershenstvovanie metodov vydeleniya izmenennykh form mikobakterii tuberkuleza u bol'nykh so stabil'nymi destruktivnymi izmeneniyami v legochnoi tkani = Improvement of methods for isolation of transformed forms of tuberculosis mycobacteria in patients with destructive lesions in lung tissue. *Problemy tuberkuleza*. 1987; 65 (10): 61–65. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 02.06.2021

Поступила после рецензирования / Revised 29.07.2021

Принята к публикации / Accepted 07.09.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Баратов Магомед Омарович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Гусейнова Патимат Султановна, научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

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

Patimat S. Huseynova, Researcher, Laboratory for Infectious Pathology of Livestock, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.



Полуколичественная оценка риска заноса чумы мелких жвачных на территорию Российской Федерации с дикими восприимчивыми животными

С. В. Щербинин¹, Ф. И. Коренной², Т. П. Акимова³, А. К. Караулов⁴

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-6434-0683>, e-mail: sherbinin@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-7378-3531>, e-mail: korennoy@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-3502-1146>, e-mail: akimova@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5731-5762>, e-mail: karaulov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Российская Федерация признана страной, благополучной по чуме мелких жвачных. Поскольку данное заболевание поражает как домашних, так и диких мелких жвачных, необходимо оценить уровень угрозы, связанный с разнообразием дикой фауны в граничащих с Россией странах, в которых зарегистрированы вспышки чумы мелких жвачных. Для этого было проведено исследование ареалов обитания различных видов диких животных, восприимчивых к данному заболеванию. С целью изучения взаимодействия популяций различных видов животных с использованием данных зоологических исследований была составлена карта ареалов обитания диких восприимчивых животных, на которой также отмечены вспышки чумы среди диких животных, позволяющие выявить существующую возможность распространения инфекции внутри этих популяций и заноса инфекции на территорию страны. В ходе анализа эпизоотической ситуации по чуме мелких жвачных установлено, что в приграничных государствах зафиксированы случаи заболевания диких горных (горные козлы и бараны) и степных мигрирующих (джейраны и сайгаки) животных. Выявлена опасность распространения данной высококонтагиозной вирусной болезни среди диких мелких жвачных Монголии (вероятность реализации события 0,77). При определении возможных направлений и факторов заноса инфекции с дикими восприимчивыми жвачными был проведен экспертный опрос, в котором специалисты в области эпизоотологии болезней мелкого рогатого скота оценили вероятность реализации опасности. В ходе опроса было установлено, что ожидается занос чумы мелких жвачных в Российскую Федерацию со стороны Монголии (вероятность 0,81), а самым значимым фактором являются сезонные миграции популяций диких жвачных. Полученные полуколичественные показатели уровня вероятной угрозы можно рекомендовать к использованию при планировании и реализации мер по недопущению заноса и распространения чумы мелких жвачных в интактные популяции домашнего и дикого мелкого рогатого скота на территории Российской Федерации.

Ключевые слова: чума мелких жвачных, анализ, дикие мелкие жвачные, риск распространения заболевания, эпизоотическая ситуация, занос чумы мелких жвачных на территорию РФ

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

Для цитирования: Щербинин С. В., Коренной Ф. И., Акимова Т. П., Караулов А. К. Полуколичественная оценка риска заноса чумы мелких жвачных на территорию Российской Федерации с дикими восприимчивыми животными. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 277–284. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-277-284.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Щербинин Сергей Владимирович, ведущий ветеринарный врач информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: sherbinin@arriah.ru.

Semi-quantitative risk assessment of peste des petits ruminants introduction with wild animals into Russian Federation

S. V. Shcherbinin¹, F. I. Korennoy², T. P. Akimova³, A. K. Karaulov⁴

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-6434-0683>, e-mail: sherbinin@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-7378-3531>, e-mail: korennoy@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-3502-1146>, e-mail: akimova@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5731-5762>, e-mail: karaulov@arriah.ru

SUMMARY

The Russian Federation was officially recognized free from peste des petits ruminants (PPR). As far as the disease infects both domestic and wild small ruminants, it is important to identify the level of the threat associated with the wild fauna diversity in the neighboring countries, where PPR outbreaks were reported. For that reason, habitats of various disease susceptible animal species were examined. Habitats of the wild susceptible animals were mapped for further examination of the interactions between different animal species using zoological research data; PPR outbreaks in wild animals were also designated in the map thus allowing for the detection of the potential routes of the infection spread in the population and introduction to the country. Analysis of the PPR epidemic situation in the country demonstrated that the disease cases were reported in wild mountain animals (ibexes and moufflons) and migratory steppe animals (gazelles and saigas). Risk of this highly contagious viral disease spread in wild small ruminants in Mongolia was reported (probability 0.77). Expert survey was carried out for the determination of possible trends and factors of the infection introduction with the wild susceptible animals, through which small ruminant epizootologists assessed the risk probability. During the survey it was determined that PPR was expected to be introduced from Mongolia (probability 0.81), and of major significance were seasonal migrations of wild animal populations. The resulted semi-quantitative parameters of the potential risk can be recommended for the arrangement and implementation of measures aimed at prevention of PPR introduction and spread in the intact domestic and wild small ruminant populations inhabiting the territory of the Russian Federation.

Keywords: peste des petits ruminants (PPR), analysis, wild small ruminants, risk, disease spread, epidemic situation, PPR introduction into the Russian Federation

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

For citation: Shcherbinin S. V., Korennoy F. I., Akimova T. P., Karaulov A. K. Semi-quantitative risk assessment of peste des petits ruminants introduction with wild animals into Russian Federation. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 277–284. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-277-284.

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

For correspondence: Sergey V. Shcherbinin, Leading Veterinarian, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: shcherbinin@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Чума мелких жвачных животных (ЧМЖ), известная также как козья чума, синдром стоматита-пневмоэнтерита, является инфекционным вирусным заболеванием домашних и диких мелких жвачных, которое угрожает продовольственной безопасности и источникам средств к существованию населения в странах Африки, Ближнего Востока и Азии.

Вспышки чумы регистрируют в ранее благополучных по заболеванию регионах мира и приводят к значительным экономическим потерям [1].

Данные последних отчетов и обзоры случаев ЧМЖ демонстрируют продолжающееся географическое расширение нозоареала среди невакцинированных восприимчивых популяций домашних мелких жвачных, что способствует распространению вируса там, где домашние и дикие виды восприимчивых к заболеванию животных сосуществуют совместно. Так, чума мелких жвачных вызвала высокую заболеваемость и смертность монгольского сайгака (*Saiga mongolica*), способствуя сокращению популяции на 80% и угрожая вымиранию этого подвида. Также клинические признаки чумы регистрировали у других находящихся под угрозой исчезновения диких парнокопытных в Азии. В Пакистане случаи заболевания чумой были выявлены в популяции синдхского бородатого козла (*Capra aegagrus blythi*). Недавние вспышки ЧМЖ в Китае были связаны с горным козлом (*Capra ibex sibirica*), архаром (*Ovis ammon*) и джейраном (*Gazella subgutturosa*) [2–10].

В ряде стран, эндемичных по ЧМЖ, появляется все больше серологических свидетельств повторного инфицирования возбудителем чумы различных видов диких животных, но явных подтверждений наличия болезни среди популяций не установлено [11, 12].

Участие представителей дикой природы в распространении ЧМЖ до конца не изучено, однако роль домашних мелких жвачных как источника инфекции для диких жвачных очевидна. Дикие мелкие жвачные широко представлены в странах, неблагополучных по ЧМЖ, и населяют большинство пастбищных угодий наряду с домашним мелким рогатым скотом (МРС). Это говорит о том, что у диких восприимчивых животных существует большой потенциал для передачи болезни как между популяциями дикой фауны, так и между дикими и домашними животными [13].

Данный факт становится особенно актуальным для приграничных регионов Российской Федерации с высокой плотностью популяций домашнего МРС при наличии напряженной эпизоотической ситуации в сопредельных странах [14] и разнообразия фауны диких восприимчивых мелких жвачных.

Целью исследования было определение потенциала к распространению чумы мелких жвачных популяциями диких восприимчивых животных в приграничных с РФ территориях с последующей оценкой риска заноса заболевания на территорию нашей страны дикими мелкими жвачными.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В рамках оценки риска заноса инфекционного агента ЧМЖ на территорию РФ с дикими жвачными было проведено исследование ареалов обитания различных видов диких животных, восприимчивых к данному заболеванию, а также их суточной активности. Учитывались вспышки ЧМЖ среди популяций целевых видов. Были определены оценочные значения (баллы), отражающие потенциал к распространению инфекции между популяциями. С целью изучения взаимодействия по-

пуляций различных видов животных с использованием данных зоологических исследований была составлена карта ареалов обитания диких восприимчивых животных, на которой также отмечены вспышки ЧМЖ среди диких животных, позволяющие выявить существующую возможность распространения чумы внутри этих популяций и заноса инфекции на территорию Российской Федерации. Картографические материалы составлены с применением программы ArcGIS.

Были выделены 3 фактора, которые способны влиять на потенциал к распространению инфекции между популяциями: обитание на одной территории различных популяций (а), наличие вспышек ЧМЖ в популяциях дикой фауны (б) и суточная активность (с). Для обозначения «весов» (т. е. значимости) балльных значений подготовлено описание к каждому оценочному баллу (табл. 1).

Присвоив оценки для каждого вида диких жвачных (табл. 2), было рассчитано среднее арифметическое значение для данных оценок, а затем средние оценки преобразованы в долю от максимально возможного балла, тем самым определили вероятную способность популяций диких жвачных распространить инфекцию (табл. 3). Полученные данные были ранжированы по степени риска.

После определения основных направлений угрозы заноса ЧМЖ с дикими жвачными был проведен опрос, в процессе которого эксперты в области эпизоотологии и болезней МРС оценивали вероятность заноса болезни в Российскую Федерацию в баллах от 1 до 5, где 1 – наименьшая вероятность, а 5 – наибольшая вероятность реализации события. Опрос позволил выявить наиболее вероятный фактор, а также направление заноса ЧМЖ на территорию страны.

Анализ экспертных мнений (табл. 4) осуществлялся по следующему алгоритму [16]:

X_i, j – средние оценки по исследуемым факторам заноса ЧМЖ в РФ;

Y_i – значение вероятности заноса ЧМЖ в РФ.

При этом значение риска для Y_i изменялось от 0 до 1, поэтому вероятность заноса рассчитывалась по формуле:

$$(\sum Y_i / X) / R,$$

где $\sum Y_i$ – сумма оценок X_i, j ;

X – максимальное количество баллов по трем факторам [12];

R – максимальный риск.

Во всех исследованиях уровень риска ранжировали по шкале [17, 18]: $R \leq 0,3$ – незначительный риск реализации события; $0,3 < R \leq 0,5$ – слабый риск реализации; $0,5 < R \leq 0,7$ – умеренный риск реализации; $0,7 < R \leq 0,9$ – высокий риск реализации.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Российская Федерация признана страной, свободной от ЧМЖ. В рамках работы по предотвращению заноса и распространения данной инфекционной болезни на территорию с интактной популяцией МРС и в перспективе поддержания статуса свободы от заболевания, проведена оценка риска заноса инфекции с дикой фауной.

Кодекс здоровья наземных животных МЭБ рекомендует оценивать риски заноса инфекционных болезней посредством выявления и анализа факторов, способ-

ствующих передаче и распространению возбудителя инфекции среди восприимчивых популяций животных, с последующей качественной или количественной оценкой этого процесса [15].

Краткий обзор диких жвачных животных, восприимчивых к ЧМЖ. Кубанский тур (*Capra caucasica*) и дагестанский тур (*Capra cylindricornis*) – парнокопытное млекопитающее из рода горных козлов семейства полорогих, обитающие в Кавказских горах на высоте от 3000 м над уровнем моря (н. у. м.). В зимний период животные спускаются на 1500–2000 м ниже. За сутки преодолевают до 10 км внутри ареала. Летом активность наблюдается преимущественно ночью, зимой – днем.

Сибирский горный козел (*Capra sibirica*) – парнокопытное млекопитающее из рода горных козлов семейства полорогих, обитающее в горных районах Таджикистана, Киргизии, Монголии, РФ, Казахстана, Китая, Афганистана, Пакистана. Активны в основном днем. Оседлое животное, совершающее миграции лишь на короткие расстояния в поисках пищи. Населяют высоты от 500 до 5000 м н. у. м.

Безоаровый козел (*Capra aegagrus*) – парнокопытное млекопитающее из рода горных козлов семейства полорогих, живущих в Турции, в большей части Малой Азии, на Кавказе и в части Пакистана. Диапазон высотного распределения от 1200 до 4500 м н. у. м. Активны в основном днем. За сутки преодолевают до 1–2 км внутри ареала.

Таблица 1

Характеристика оценочных значений (баллов) для нахождения вероятности распространения инфекции представителями дикой фауны

Table 1

Specification of the estimates (scores) for determination of the probability of the disease spread with wild fauna

Факторы	Балл	Характеристика
а) Обитание на одной территории	1	Ареалы разных популяций сильно разобщены. Особи популяции одного вида не переходят в популяции другого (ввиду наличия естественных или искусственных барьеров: гор, территорий других государств, водоемов и др.)
	2	Ареалы разных популяций разобщены или соприкасаются. Особи популяции одного вида могут переходить в популяции другого (например, популяции на территории одной страны, но расположены полярно, или степные копытные, обитающие у подножия гор, которые населяют горные копытные)
	3	Популяция одного вида обитает в составе популяции другого вида
б) Наличие вспышек в популяциях дикой фауны	1	Вспышки ЧМЖ в популяции дикой фауны не наблюдались
	2	Вспышки ЧМЖ в популяции дикой фауны наблюдались более чем 24 мес. назад
	3	Вспышки ЧМЖ в популяции дикой фауны наблюдались менее чем 24 мес. назад [15]
в) Суточная активность	1	Периоды пастбы и отдыха не совпадают (например, особи одной популяции активны днем, а другой – ночью)
	2	Начало периода отдыха одного вида животных совпадает с началом периода активности другого
	3	Периоды пастбы и отдыха совпадают

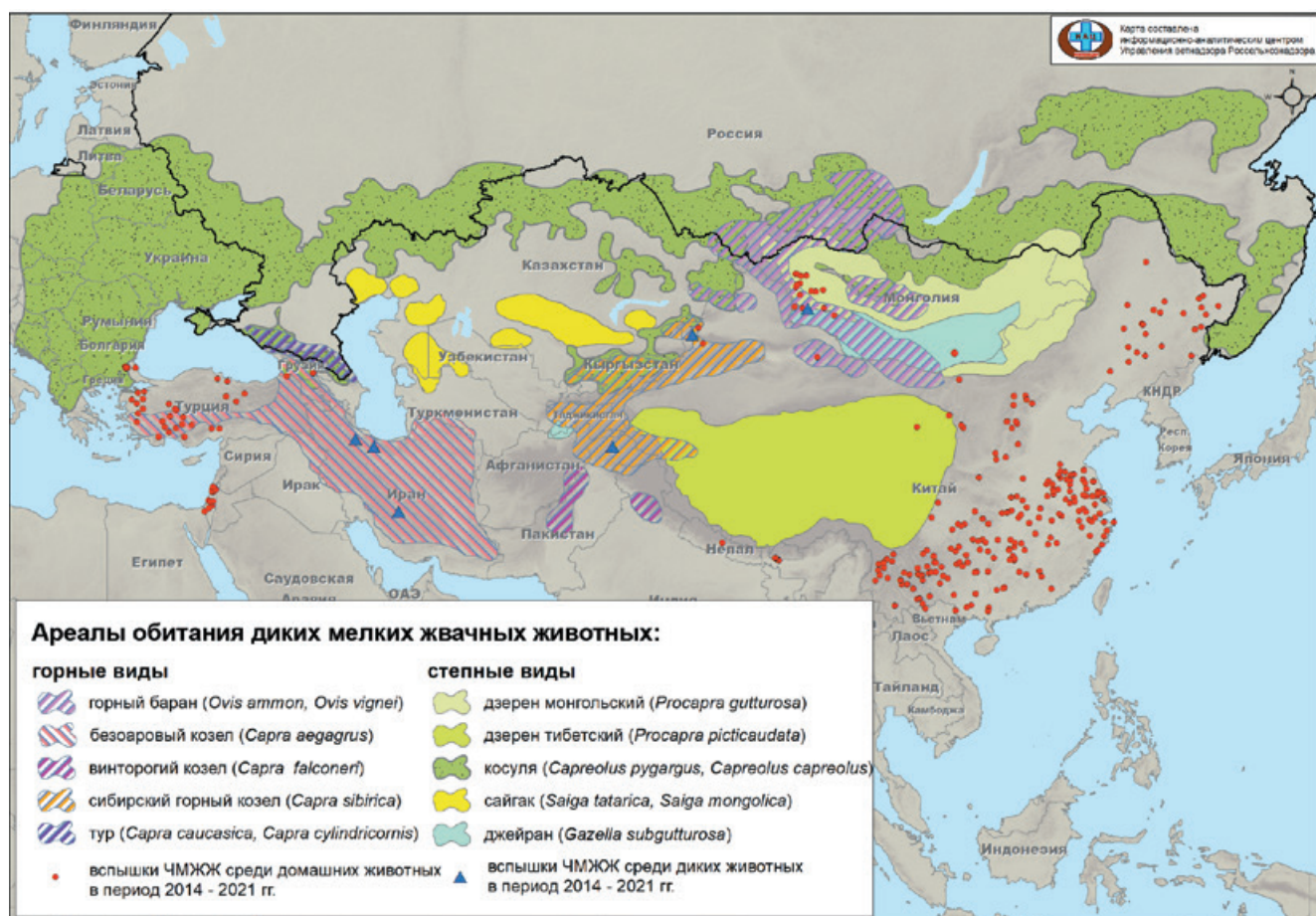


Рис. 1. Карта ареалов обитания диких мелких жвачных животных

Fig. 1. Habitats of wild small ruminants

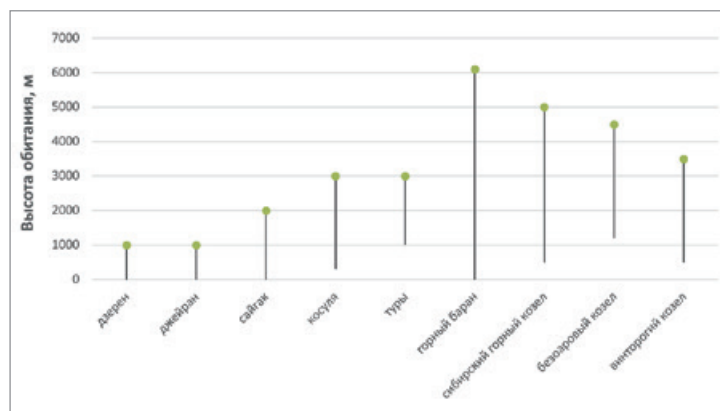


Рис. 2. Распределение высот обитания восприимчивых к ЧМЖ диких жвачных животных, обитающих в неблагополучных по заболеванию странах

Fig. 2. Distribution of elevations of the habitats of the PPR-susceptible wild ruminants inhabiting the disease infected countries

Винторогий козел (*Capra falconeri*) – парнокопытное млекопитающее из рода горных козлов семейства полорогих, распространен в Западных Гималаях, Кашмире, Малом Тибете и Афганистане, а также в горах по реке Пяндж, на хребтах Кугитангтау, Бабатаг и Дарвазском в Таджикистане. Диапазон высотного распределения от 500 до 3500 м н. у. м. Активны в ос-

новном днем. За сутки преодолевают до 1–2 км внутри ареала.

Горный баран, или архар, (*Ovis ammon*) – парнокопытное млекопитающее из рода баранов семейства полорогих. Распространен в горах и предгорьях Передней, Средней и Центральной Азии, на север – до Закавказья, Казахского нагорья и Южной Сибири, на юг – до Гималаев, на восток – до Большого Хингана включительно. Обитают на высоте 1300–6100 м н. у. м. Преимущественно оседлые животные, могут совершать миграции не более 5 км в горизонтальном направлении. Активны в течение всего дня, чередуя отдых и пастбу.

Монгольский (*Procapra gutturosa*) и тибетский (*Procapra picticaudata*) дзерены – парнокопытные млекопитающие из рода дзеренов семейства полорогих, обитающие в зоне дерновинно-злаковых и частично пустынных степей Центральной Азии, находящихся на высотах от 800 до 1000 м н. у. м. (Южный Алтай, юг Тувы и Забайкалья, западная часть Китая, Монголия, Тибет, Гималаи). Суточная активность полифазная. Наиболее активны вечером и в начале ночи, а также утром до 10–11 ч. В июне – июле кормятся днем с небольшими перерывами на отдых. Большую часть ночи животные отдыхают.

Джейран (*Gazella subgutturosa*) – парнокопытное млекопитающее из рода газелей семейства полорогих, обитающее в пустынных и полупустынных областях Таджикистана и Монголии (исторический ареал вклю-

Таблица 2

Матрица оценочных значений (баллов) факторов распространения ЧМЖ с дикими жвачными

Table 2

Matrix of estimated factors scores of PPR spread with wild ruminants

$X_{a,b,c} 1...3^*$	Туры (<i>Capra caucasica</i> , <i>Capra cylindricornis</i>)			Сибирский горный козел (<i>Capra sibirica</i>)			Горный баран (<i>Ovis ammon</i>)			Безоаровый козел (<i>Capra aegagrus</i>)			Винторогий козел (<i>Capra falconeri</i>)		
Дзерен монгольский (<i>Procapra gutturosa</i>)	1	1	1	2	2	2	3	2	2	1	2	2	1	1	2
	1	2	1	2	2	2	3	2	2	1	2	2	1	2	2
Дзерен тибетский (<i>Procapra picticaudata</i>)	1	1	1	1	2	2	1	2	2	1	2	2	1	1	2
	1	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	2
Сайгак (<i>Saiga tatarica</i>)	1	1	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	1	3
	1	1	3	1	1	3	1	1	3	1	1	3	1	1	3
Косуля (<i>Capreolus</i>)	3	1	2	3	2	1	3	2	2	2	2	1	1	1	1
	3	1	2	3	1	1	3	1	2	2	1	1	1	1	1
$X_{a,b,c} 1...3$				Туры/Turs (<i>Capra caucasica</i> , <i>Capra cylindricornis</i>)											
Дзерен монгольский / Mongolian gazelle (<i>Procapra gutturosa</i>)				1	1	1	– параметры a, b, c для туров (parameters a, b, c – for turs);								
				1	2	1	– параметры a, b, c для дзеренов (parameters a, b, c – for dzerens).								

чал Киргизию, Иран, Армению, Грузию и Дагестан). В начале XXI в. насчитывалось около 140 тыс. особей в совокупности, однако к 2009 г. произошло массовое вымирание данных копытных. Средняя плотность в нынешних ареалах колеблется от 0,003 (Монголия) до 0,3 особи на 1000 га (Таджикистан). Летом животные активны с раннего до позднего утра. Смешиваются с популяцией дзеренов в Монголии. Общая численность на данный момент не превышает 11 тыс. особей.

Сайгак (*Saiga tatarica*) – это мигрирующее животное из семейства полорогих. Большинство особей сконцентрировано на южных территориях Казахстана, в парках дикой природы Астраханской области и Республики Калмыкия в Российской Федерации, в Западной Монголии. Обитают на равнинной местности, а также

на высотах, достигающих 2000 м н. у. м. Животные совершают сезонные миграции: зиму проводят в местах, где высота снежного покрова не превышает 15–20 см, в начале лета мигрируют в более северные районы. Летом активность наблюдается преимущественно ночью, зимой – днем.

Косули (*Capreolus pygargus*, *Capreolus capreolus*) – телеметакарпальные олени относительно мелкого размера, стройного и легкого сложения. Характерна резко выраженная территориальность в репродуктивный период. Существуют оседлые и сезонно мигрирующие популяции. Животные обитают в лесостепи, населяют полупустыни и пустыни, в высокогорные районы поднимаются до высоты 3000 м н. у. м., активны рано утром и в сумерки. Распространены в южных приграничных

Таблица 3

Уровни риска распространения ЧМЖ согласно значениям (баллам) факторов распространения чумы с дикими жвачными

Table 3

PPR spread risk levels according to factor scores of PPR spread with wild ruminants

$\Sigma X (R)$	Туры (<i>Capra caucasica</i> , <i>Capra cylindricornis</i>)	Сибирский горный козел (<i>Capra sibirica</i>)	Горный баран (<i>Ovis ammon</i>)	Безоаровый козел (<i>Capra aegagrus</i>)	Винторогий козел (<i>Capra falconeri</i>)
Дзерен монгольский (<i>Procapra gutturosa</i>)	1,16 (0,38)***	2,0 (0,66)**	2,3 (0,77)*	1,6 (0,55)**	1,5 (0,5)***
Дзерен тибетский (<i>Procapra picticaudata</i>)	1 (0,33)****	1,5 (0,5)***	1,5 (0,5)***	1,5 (0,5)***	1,3 (0,43)***
Сайгак (<i>Saiga tatarica</i> , <i>Saiga mongolica</i>)	1,6 (0,55)**	1,83 (0,61)**	1,83 (0,61)**	1,83 (0,61)**	1,6 (0,55)**
Косуля (<i>Capreolus</i>)	2,0 (0,66)*	1,83 (0,61)**	2,16 (0,72)*	1,5 (0,5)***	1 (0,33)****

Уровни риска (risk levels): * высокий риск (high risk), ** умеренный риск (moderate risk), *** слабый риск (low risk),

**** незначительный риск (insignificant risk).

Таблица 4
Средняя балльная оценка реализации риска заноса чумы мелких жвачных

Table 4
Average score of PPR introduction risk event

№ п/п	Направление заноса	Средняя балльная оценка возможных факторов заноса ЧМЖ на территорию РФ ($\bar{X}_i, I$)			
		1*	2**	3***	Y_i
1	Грузия	4,4	2,2	4,3	0,73
2	Турция	2,3	1,0	3,9	0,48
3	Иран	2,1	1,1	3,6	0,45
4	Казахстан	4,7	2,5	4,2	0,76
5	Китай	4,3	2,3	3,6	0,68
6	Монголия	4,9	2,9	4,4	0,81

* занос во время миграций диких животных (introduction during wild animal migrations);

** занос с дикими животными во время гона (introduction with wild animals during mating period);

*** занос при контактах диких и домашних животных на общих пастбищах (introduction due to contacts between the wild and domestic animals on shared pastures);

Y_i – значение вероятности заноса ЧМЖ (PPR introduction p-value).

районах РФ, а также на территориях сопредельных государств. Содержатся в основном в заказниках и национальных парках [17, 19, 20].

На рисунке 1 представлена картография ареалов обитания диких мелких жвачных животных, график распределения высот обитания каждого описанного вида отображен на рисунке 2.

Оценка заноса ЧМЖ с восприимчивыми дикими жвачными. Оценочные значения факторов распространения ЧМЖ в популяциях диких восприимчивых жвачных (табл. 2) и результат их обработки (табл. 3) были преобразованы в значения вероятности потенциального распространения чумы различными популяциями диких жвачных (при взаимодействии горных и степных популяций).

На основании данных о поведении исследуемых видов животных, их географическом распределении, наличии горных массивов в приграничных регионах Российской Федерации и литературных источников, описывающих эпизоотический процесс среди диких животных [4, 13], было выдвинуто предположение, что взаимодействие степных (мигрирующих) и горных (немигрирующих) восприимчивых к ЧМЖ копытных может иметь важное значение в распространении заболевания.

В ходе исследования установили, что наибольший потенциал к распространению ЧМЖ имеют взаимодействия популяций монгольского дзерена (*Procapra gutturosa*) и горного барана (*Ovis ammon*), которые демонстрируют высокий риск реализации события (вероятность 0,77). Особи данных популяций обитают на одной территории (Монголия и северная часть Китая), их активность частично совпадает, и в данных популяциях регистрировались вспышки ЧМЖ. Учитывая пограничное положение популяций, следует ожидать занос ЧМЖ на территорию РФ при возникновении вспышек среди них.

Также высоким потенциалом к распространению ЧМЖ обладают взаимодействия популяций горного барана (*Ovis ammon*) и косуль (*Capreolus*) –

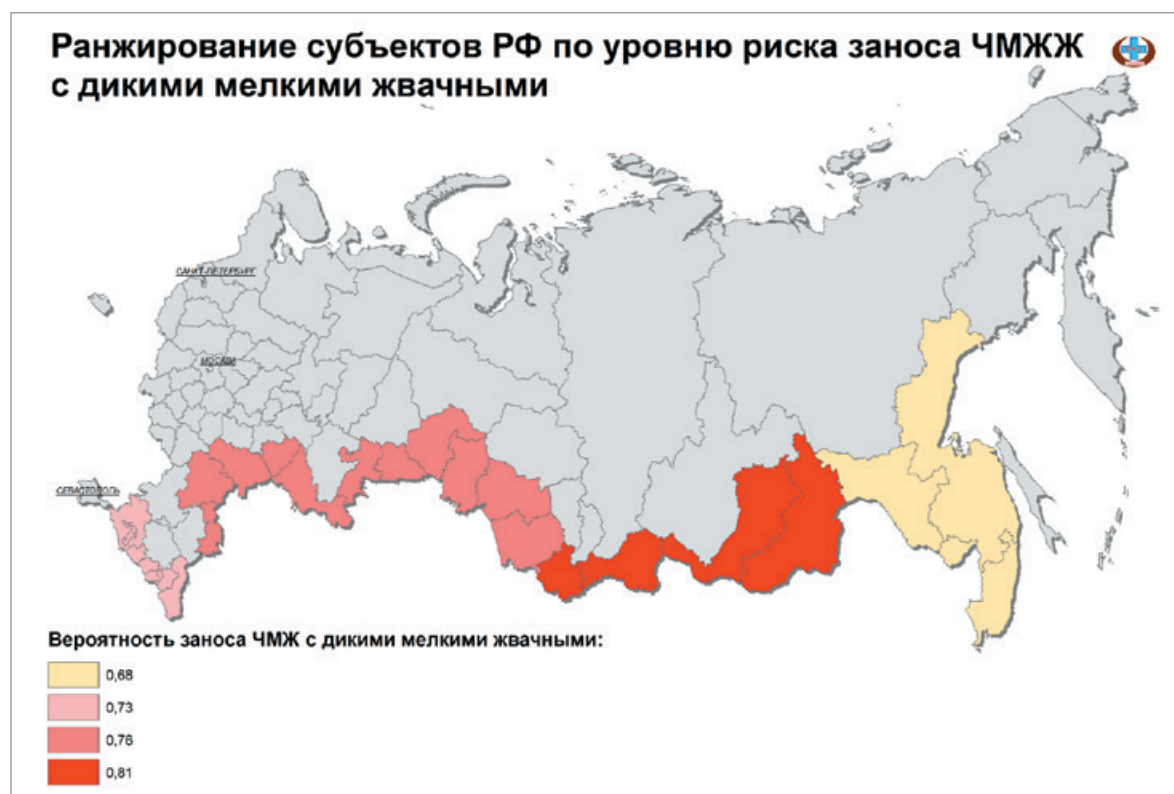


Рис. 3. Субъекты РФ с различным уровнем риска заноса чумы мелких жвачных

Fig. 3. Russian Federation entities with different levels of PPR introduction risk

вероятность 0,72, что указывает на наличие угрозы заноса ЧМЖ в Российскую Федерацию с копытными, обитающими на территории Монголии.

Наименьший потенциал к распространению ЧМЖ демонстрируют гипотетические взаимодействия популяций тибетского дзерена (*Procapra picticaudata*) и туров (*Capra caucasica*, *Capra cylindricornis*), а также коз (Capreolus) и винторогого козла (*Capra falconeri*). У данных видов животных не обнаружено ни одного совпадающего фактора, их популяции сильно разобщены, и вероятность обитания на одной территории стремится к нулю.

Таким образом, можно сделать вывод о высокой степени риска распространения ЧМЖ популяциями диких восприимчивых жвачных, обитающих на территории Монголии (вероятность 0,77 и 0,72). Это говорит о том, что необходимо усилить меры по превенции заноса в дальневосточном направлении и последующего распространения заболевания [21].

Результаты экспертного опроса специалистов в области эпизоотологии и болезней МРС представлены в таблице 4, а ранжирование субъектов РФ по уровню риска заноса ЧМЖ на их территорию – на рисунке 3.

При анализе экспертных оценок (табл. 4) удалось установить, что наиболее вероятным фактором заноса инфекции на территорию РФ являются миграции потенциально зараженных диких жвачных. Причем из перечисленных направлений высокий риск демонстрирует Монголия (вероятность заноса 0,81), Казахстан (вероятность заноса 0,76) и Грузия (вероятность заноса 0,73). Остальные направления (Китай, Турция и Иран) демонстрируют умеренный риск (вероятность заноса 0,68; 0,48 и 0,45 соответственно).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенной работы можно сделать вывод о том, что вспышки ЧМЖ среди представителей дикой фауны представляют серьезную угрозу для распространения инфекции в благополучные стада. Наиболее вероятным фактором заноса, по мнению экспертов, являются сезонные миграции диких животных. Потенциал к распространению заболевания демонстрируют скопления популяций жвачных дикой фауны на дальневосточном направлении. При этом занос инфекции из Монголии, как считают эксперты, наиболее вероятен и несет высокий риск реализации (значение вероятности 0,81).

При планировании мероприятий по недопущению заноса и распространения ЧМЖ на территории РФ в рамках поддержания статуса благополучия страны необходимо учитывать полученные результаты исследования и усиливать надзорные мероприятия в приграничных регионах и в отношении популяций диких жвачных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Parida S., Muniraju M., Mahapatra M., Muthuchelvan D., Buczkowski H., Banyard A. C. Peste des petits ruminants. *Vet. Microbiol.* 2015; 181 (1–2): 90–106. DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.08.009.
- Abubakar M., Rajput Z. I., Arshed M. J., Sarwar G., Ali Q. Evidence of peste des petits ruminants virus (PPRV) infection in Sindh Ibex (*Capra aegagrus blythi*) in Pakistan as confirmed by detection of antigen and antibody. *Trop. Anim. Health Prod.* 2011; 43 (4): 745–747. DOI: 10.1007/s11250-010-9776-y.
- Aziz-Ul-Rahman, Wensman J. J., Abubakar M., Shabbir M. Z., Rossiter P. Peste des petits ruminants in wild ungulates. *Trop. Anim. Health Prod.* 2018; 50 (8): 1815–1819. DOI: 10.1007/s11250-018-1623-6.

- Fine A. E., Pruvot M., Ostrowski S., Walzer C., Benfield C. T. O., Kock R., et al. Eradication of peste des petits ruminants virus and the wildlife-livestock interface. *Front. Vet. Sci.* 2020; 7:50. DOI: 10.3389/fvets.2020.00050.
- Li J., Li L., Wu X., Liu F., Zou Y., Wang Q., et al. Diagnosis of peste des petits ruminants in wild and domestic animals in Xinjiang, China, 2013–2016. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): e43–e47. DOI: 10.1111/tbed.12600.
- Li L., Cao X., Wu J., Dou Y., Meng X., Liu D., et al. Epidemic and evolutionary characteristics of peste des petits ruminants virus infecting *Procapra przewalskii* in Western China. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 75: 104004. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.104004.
- Mahapatra M., Sayalel K., Muniraju M., Eblate E., Fyumagwa R., Shilinde L., et al. Spillover of peste des petits ruminants virus from domestic to wild ruminants in the Serengeti ecosystem, Tanzania. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21 (12): 2230–2234. DOI: 10.3201/eid2112.150223.
- Marashi M., Masoudi S., Moghadam M. K., Modirrousta H., Marashi M., Parvizifar M., et al. Peste des petits ruminants virus in vulnerable wild small ruminants, Iran, 2014–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23 (4): 704–706. DOI: 10.3201/eid2304.161218.
- Pruvot M., Fine A. E., Hollinger C., Strindberg S., Damdinjav B., Buuveibaatar B., et al. Outbreak of peste des petits ruminants among critically endangered Mongolian saiga and other wild ungulates, Mongolia, 2016–2017. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26 (1): 51–62. DOI: 10.3201/eid2601.181998.
- Xia J., Zheng X. G., Adili G. Z., Wei Y. R., Ma W. G., Xue X.M., et al. Sequence analysis of peste des petits ruminants virus from ibexes in Xinjiang, China. *Genet. Mol. Res.* 2016; 15 (2): gmr7783. DOI: 10.4238/gmr.15027783.
- Aguilar X. F., Fine A. E., Pruvot M., Njeumi F., Walzer C., Kock R., et al. PPR virus threatens wildlife conservation. *Science*. 2018; 362 (6411): 165–166. DOI: 10.1126/science.aav4096.
- Mantip S. E., Shamaki D., Farougou S. Peste des petits ruminants in Africa: meta-analysis of the virus isolation in molecular epidemiology studies. *Understepoort. J. Vet. Res.* 2019; 86 (1): e1–e15. DOI: 10.4102/ojvr.v86i1.1677.
- Munir M. Role of wild small ruminants in the epidemiology of peste des petits ruminants. *Transbound. Emerg. Dis.* 2014; 61 (5): 411–424. DOI: 10.1111/tbed.12052.
- Семакина В. П., Акимов Т. П., Ирза А. В., Митрофанова М. Н. Чума мелких жвачных в мире и в государствах, сопредельных с Российской Федерацией. *Ветеринарный врач*. 2019; 1: 43–50. DOI: 10.33632/1998-698X.2019-1-43-50.
- OIE. Terrestrial Animal Health Code. Paris: OIE; 2021. Режим доступа: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access>.
- Гуленкин В. М., Караулов А. К., Лозовой Д. А., Захаров В. М. Экспертная оценка риска заноса ящура на территорию Российской Федерации из неблагополучных государств. *Ветеринария сегодня*. 2018; 2 (25): 36–41. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-2-25-36-41.
- Адъяа Я., Гунин П. Д., Наранбаатар Г., Цогтжаргал Г. Современное состояние популяций и проблемы сохранения копытных животных аридных зон Монголии. *Аридные экосистемы*. 2016; 3 (68): 20–31. Режим доступа: <http://aridecosystems.ru/wp-content/uploads/2019/01/AЭ-№3-2016.pdf>.
- Гуленкин В. М., Коренной Ф. И., Караулов А. К. Методические рекомендации количественной (балльной) оценки мнений экспертной группы по вопросам эпизоотологии инфекционных заболеваний животных, безопасности пищевой животноводческой и рыбной продукции: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 21.09.2017 № 41-17. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2017. 18 с.
- Данилкин А. А. Полорогие (*Bovidae*). М.: Товарищество науч. изд. КМК; 2005. 550 с.
- Beauvais W., Zuther S., Villeneuve C., Kock R., Guitian J. Rapidly assessing the risks of infectious diseases to wildlife species. *R. Soc. Open Sci.* 2019; 6 (1): 181043. DOI: 10.1098/rsos.181043.
- Щербинин С. В., Караулов А. К., Захаров В. М. Анализ угрозы заноса чумы мелких жвачных на территорию Российской Федерации. *Ветеринария сегодня*. 2017; 4 (23): 17–22. Режим доступа: <https://veterinary.aria.ru/jour/article/view/327>.

REFERENCES

- Parida S., Muniraju M., Mahapatra M., Muthuchelvan D., Buczkowski H., Banyard A. C. Peste des petits ruminants. *Vet. Microbiol.* 2015; 181 (1–2): 90–106. DOI: 10.1016/j.vetmic.2015.08.009.
- Abubakar M., Rajput Z. I., Arshed M. J., Sarwar G., Ali Q. Evidence of peste des petits ruminants virus (PPRV) infection in Sindh Ibex (*Capra aegagrus blythi*) in Pakistan as confirmed by detection of antigen and antibody. *Trop. Anim. Health Prod.* 2011; 43 (4): 745–747. DOI: 10.1007/s11250-010-9776-y.
- Aziz-Ul-Rahman, Wensman J. J., Abubakar M., Shabbir M. Z., Rossiter P. Peste des petits ruminants in wild ungulates. *Trop. Anim. Health Prod.* 2018; 50 (8): 1815–1819. DOI: 10.1007/s11250-018-1623-6.

4. Fine A. E., Pruvot M., Ostrowski S., Walzer C., Benfield C. T. O., Kock R., et al. Eradication of peste des petits ruminants virus and the wildlife-livestock interface. *Front. Vet. Sci.* 2020; 7:50. DOI: 10.3389/fvets.2020.00050.
5. Li J., Li L., Wu X., Liu F., Zou Y., Wang Q., et al. Diagnosis of peste des petits ruminants in wild and domestic animals in Xinjiang, China, 2013–2016. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): e43–e47. DOI: 10.1111/tbed.12600.
6. Li L., Cao X., Wu J., Dou Y., Meng X., Liu D., et al. Epidemic and evolutionary characteristics of peste des petits ruminants virus infecting *Procapra przewalskii* in Western China. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 75: 104004. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.104004.
7. Mahapatra M., Sayale K., Muniraju M., Eblate E., Fyumagwa R., Shilinde L., et al. Spillover of peste des petits ruminants virus from domestic to wild ruminants in the Serengeti ecosystem, Tanzania. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21 (12): 2230–2234. DOI: 10.3201/eid2112.150223.
8. Marashi M., Masoudi S., Moghadam M. K., Modirrousta H., Marashi M., Parvizifar M., et al. Peste des petits ruminants virus in vulnerable wild small ruminants, Iran, 2014–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23 (4): 704–706. DOI: 10.3201/eid2304.161218.
9. Pruvot M., Fine A. E., Hollinger C., Strindberg S., Damdinjav B., Buuveibaatar B., et al. Outbreak of peste des petits ruminants among critically endangered Mongolian saiga and other wild ungulates, Mongolia, 2016–2017. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26 (1): 51–62. DOI: 10.3201/eid2601.181998.
10. Xia J., Zheng X. G., Adili G. Z., Wei Y. R., Ma W. G., Xue X. M., et al. Sequence analysis of peste des petits ruminants virus from ibexes in Xinjiang, China. *Genet. Mol. Res.* 2016; 15 (2): gmr7783. DOI: 10.4238/gmr.15027783.
11. Aguilar X. F., Fine A. E., Pruvot M., Njeumi F., Walzer C., Kock R., et al. PPR virus threatens wildlife conservation. *Science*. 2018; 362 (6411): 165–166. DOI: 10.1126/science.aav4096.
12. Mantip S. E., Shamaki D., Farougou S. Peste des petits ruminants in Africa: meta-analysis of the virus isolation in molecular epidemiology studies. *Onderstepoort. J. Vet. Res.* 2019; 86 (1): e1–e15. DOI: 10.4102/ojvr.v86i1.1677.
13. Munir M. Role of wild small ruminants in the epidemiology of peste des petits ruminants. *Transbound. Emerg. Dis.* 2014; 61 (5): 411–424. DOI: 10.1111/tbed.12052.
14. Semakina V. P., Akimova T. P., Irza A. V., Mitrofanova M. N. Peste des petits ruminants in the world and in the countries neighboring the Russian Federation. *Veterinarian*. 2019; 1: 43–50. DOI: 10.33632/1998-698X.2019-1-43-50. (in Russ.)
15. OIE. Terrestrial Animal Health Code. Paris: OIE; 2021. Available at: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access>.
16. Gulenkin V. M., Karaulov A. K., Lozovoi D. A., Zakharov V. M. Expert risk assessment of FMD introduction to the Russian Federation from infected countries. *Veterinary Science Today*. 2018; 2 (25): 36–41. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-2-25-36-41.
17. Adya Y., Gunin P. D., Naranbaatar G., Tsogtjargal G. The current populations and conservation issues of wild ungulates in arid zones of Mongolia. *Arid Ecosystems*. 2016; 6: 158–168. DOI: 10.1134/S207909611603001X.
18. Gulenkin V. M., Korennoi F. I., Karaulov A. K. Metodicheskie rekomendatsii kolichestvennoi (ball'noi) otsenki mnenii ekspertnoi gruppy po voprosam epizootologii infektsionnykh zaboolevani zhivotnykh, bezopasnosti pishchevoi zhivotnovodcheskoi i rybnoi produktsii = Methodical guidance for quantitative assessment (scores) of expert group opinions on epidemiology of infectious animal diseases, animal and fishery product safety: approved by FGBI "ARRIAH" 21.09.2017 No. 41-17. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2017. 18 p. (in Russ.)
19. Danilkin A. A. Polorogie (Bovidae) = Hollow-horned animals (Bovidae). Moscow: Tovarishchestvo nauch. izd. KMK; 2005. 550 p. (in Russ.)
20. Beauvais W., Zuther S., Villeneuve C., Kock R., Guitian J. Rapidly assessing the risks of infectious diseases to wildlife species. *R. Soc. Open Sci.* 2019; 6 (1): 181043. DOI: 10.1098/rsos.181043.
21. Scherbinin S. V., Karaulov A. K., Zakharov V. M. Risk analysis of peste des petits ruminants introduction into the territory of the Russian Federation. *Veterinary Science Today*. 2017; 4 (23): 17–22. Available at: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/327>.

Поступила в редакцию / Received 09.07.2021

Поступила после рецензирования / Revised 27.07.2021

Принята к публикации / Accepted 23.08.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Щербинин Сергей Владимирович, ведущий ветеринарный врач информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Коренной Федор Игоревич, кандидат географических наук, научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Акимова Татьяна Петровна, ведущий ветеринарный врач информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Караулов Антон Константинович, кандидат ветеринарных наук, руководитель информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Sergey V. Shcherbinin, Leading Veterinarian, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Fedor I. Korennoy, Candidate of Science (Geography), Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Tatyana P. Akimova, Leading Veterinarian, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Anton K. Karaulov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.



Методы отбора крови для выявления антител к вирусу африканской чумы свиней у диких кабанов и домашних свиней в полевых условиях

А. С. Першин¹, А. Р. Шотин², Е. О. Морозова³, А. С. Иголкин⁴, О. А. Мануйлова⁵, И. В. Шевченко⁶, А. А. Шевцов⁷, Н. Н. Власова⁸

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-5099-3050>, e-mail: daredron@gmail.com

² <https://orcid.org/0000-0001-9884-1841>, e-mail: shotin@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-0955-9586>, e-mail: morozova_eo@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-4616-5316>, e-mail: o.manuylova@list.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0001-6482-7814>, e-mail: shvchenko@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-2555-6043>, e-mail: shvcev@arriah.ru

⁸ <https://orcid.org/0000-0001-8707-7710>, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Считается, что вследствие высокой вирулентности вируса африканской чумы свиней его циркуляция на территории Российской Федерации сопровождается низкой серопревалентностью. Однако ввиду длительного неблагополучия, внедрения в популяцию дикого кабана и появления ослабленных вариантов вируса повышается значимость серологических исследований, направленных на выявление антител к возбудителю болезни. Для сбора полевых образцов биологического материала от животных с целью проведения молекулярно-генетических, вирусологических и серологических исследований можно использовать фильтровальную бумагу, а также зонд-тампоны. Специфичность и чувствительность твердофазного иммуноферментного анализа при исследовании образцов крови, нанесенной на фильтровальную бумагу, уступают результатам, получаемым при исследовании сыворотки крови, но тем не менее позволяют с успехом выявлять специфические антитела к вирусу африканской чумы свиней. Показана возможность использования фильтровальной бумаги, пропитанной кровью животных, для исследования методом иммуноблоттинга, однако оптимального результата удалось добиться при использовании иммунопероксидазного метода в сочетании с пробами, отобранными зонд-тампонами. При сравнении результатов твердофазного иммуноферментного анализа сывороток крови, полученных от домашних свиней (зараженных вирусом африканской чумы свиней изолятов Антоново 07/14 и Собинка 07/15), и крови, отобранной на фильтровальную бумагу при скарификации ушных вен, чувствительность составила 88,9%, специфичность – 90,6%. Однако использование иммунопероксидажного метода при исследовании образцов высушенной на зонд-тампоне крови показало 100%-е совпадение с иммуноферментным анализом, в то время как при исследовании сыворотки крови иммунопероксидажный метод превзошел иммуноферментный анализ по чувствительности. Следовательно, отбор крови с применением зонд-тампонов может быть рекомендован для проведения исследований после соответствующей валидации. Данный метод может быть особенно полезен для сбора информации об инфицированных диких кабанах, так как ее отсутствие делает невозможным применение эффективных стратегий эрадикации.

Ключевые слова: африканская чума свиней, серологическая диагностика, твердофазный иммуноферментный анализ, иммунопероксидажный метод, иммуноблоттинг, фильтровальная бумага, зонд-тампоны

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

Для цитирования: Першин А. С., Шотин А. Р., Морозова Е. О., Иголкин А. С., Мануйлова О. А., Шевченко И. В., Шевцов А. А., Власова Н. Н. Методы отбора крови для выявления антител к вирусу африканской чумы свиней у диких кабанов и домашних свиней в полевых условиях. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 285–294. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-285-294.

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.

Techniques of blood sampling for detection of African swine fever virus in wild boar and domestic pigs in the field conditions

A. S. Pershin¹, A. R. Shotin², E. O. Morozova³, A. S. Igolkin⁴, O. A. Manuylova⁵, I. V. Shevchenko⁶, A. A. Shevtsov⁷, N. N. Vlasova⁸

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

© Першин А. С., Шотин А. Р., Морозова Е. О., Иголкин А. С., Мануйлова О. А., Шевченко И. В., Шевцов А. А., Власова Н. Н., 2021

¹ <https://orcid.org/0000-0002-5099-3050>, e-mail: daredron@gmail.com

² <https://orcid.org/0000-0001-9884-1841>, e-mail: shotin@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-0955-9586>, e-mail: morozova_eo@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-4616-5316>, e-mail: o.manuylova@list.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0001-6482-7814>, e-mail: shevchenko@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-2555-6043>, email: shevcov@arriah.ru

⁸ <https://orcid.org/0000-0001-8707-7710>, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru.

SUMMARY

It is thought that due to the high virulence of the African swine fever virus its circulation in the Russian Federation is accompanied by a low seroprevalence. However taking into account a long-term ASF unfavourable situation, the introduction of the virus into the wild boar population, and the occurrence of attenuated viral variants, the significance of serological testing aimed at the detection of viral antibodies is increasing. To collect field samples of biological material from animals for molecular genetic, virological, and serological tests, filter paper, as well as swabs, can be used. The specificity and sensitivity of enzyme-linked immunosorbent assay when testing blood absorbed by filter paper are worse than those shown when testing sera, but they allow effective detection of African swine fever virus antibodies. It was demonstrated that blood absorbed on filter paper can be used for the immunoblot analysis, but the optimum performance could be achieved when the immunoperoxidase technique in combination with samples, taken by swabs was used. When comparing results of enzyme-linked immunosorbent assay performed on sera collected from domestic pigs (infected with ASFV isolates Antonovo 07/14 and Sobinka 07/15), and blood from ear veins absorbed on filter paper the sensitivity was 88.9%, specificity – 90.6%. However, the use of the immunoperoxidase technique for testing blood from swabs showed 100% coincidence with ELISA, while testing of sera with immunoperoxidase technique was superior to ELISA in sensitivity. This means blood sampling using swabs may be recommended for tests after proper validation. This technique can be especially useful for collecting data about infected wild boars because effective eradication strategies are impossible without such data.

Keywords: African swine fever, serological diagnosis, enzyme-linked immunosorbent assay, immunoperoxidase technique, immunoblot analysis, filter paper, swabs

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

For citation: Pershin A. S., Shotin A. R., Morozova E. O., Igolkin A. S., Manuylova O. A., Shevchenko I. V., Shevtsov A. A., Vlasova N. N. Techniques of blood sampling for detection of African swine fever virus in wild boar and domestic pigs in the field conditions. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 285–294. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-285-294.

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) – контагиозная септическая болезнь домашних, в том числе декоративных, свиней и диких кабанов. Болезнь может проявляться в формах от сверхострой до бессимптомной [1–3]. Глобальная ситуация по АЧС продолжает ухудшаться, угрожая мировой продовольственной безопасности. На данный момент болезнью поражено более 50 стран. Очень большие потери регистрируют в азиатских странах. Например, только в Китае уже уничтожено и погибло более 100 млн свиней [4].

Для предотвращения распространения и искоренения АЧС в популяции домашних свиней требуется применение строгих мер биологической безопасности, политики стемпинг аут, пресечение незаконного оборота свиноголовья и мясoproductов. Применение аналогичных мер в популяции дикого кабана затруднено сложностью обеспечения мер биобезопасности в местах обитания животных и тенденцией болезни становиться эндемичной при использовании неоптимальных стратегий ликвидации. При этом оценка эффективности применяемых мер борьбы с АЧС невоз-

можна без функционирующей надлежащим образом системы эпизоотологического надзора [5].

Присутствие вируса в популяции дикого кабана создает риск заражения для домашних свиней. После внедрения вируса АЧС в популяцию кабана наблюдается длительное неблагополучие, растущее в пространстве и времени. В большинстве стран Европейского союза с момента выявления инфекции у дикого кабана с целью предотвращения передачи вируса между инфицированными и восприимчивыми животными предпринимались попытки сдерживания инфекции путем снижения плотности поголовья и, как следствие, числа контактов между ними. Однако результаты применения данной стратегии на ранней стадии эпизоотии в зараженной области оказались неудовлетворительными [6].

Считается, что в распространении АЧС важную роль играет так называемый человеческий фактор, связанный с нарушением людьми ветеринарно-санитарных правил [7]. При этом I. Iglesias et al. с помощью метода пространственно-временного анализа установили, что в 2007–2013 гг. в Российской

Федерации кабаны могли являться источником инфекции в популяциях домашних свиней в 32,23% случаев и диких свиней в 28,77% случаев [8].

Наличие инфицированных диких кабанов увеличивает сложность эрадикации АЧС в районах с большим количеством личных подсобных хозяйств, имеющих низкий уровень биозащиты. Кабаны способны к интенсивному нашествию в агроценозы, что вовлекает их в антропогенный цикл передачи АЧС и позволяет им участвовать в распространении и сохранении вируса в ранее благополучных районах [9]. Различные биотехнические мероприятия, такие как отстрел хищников и зимняя подкормка животных, могут приводить к увеличению численности популяции диких кабанов и создавать условия для быстрого распространения инфекции [10]. Таким образом, в системе эпизоотологического надзора за АЧС и в комплексе проводимых мероприятий при ликвидации эпизоотических очагов необходимо учитывать наличие восприимчивой популяции дикого кабана на территории России. Кроме того, по требованиям кодекса Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) необходимо проводить регулярный надзор за популяцией диких животных при определении статуса страны по африканской и классической чуме свиней.

На данный момент для раннего обнаружения инфицированных животных серодиагностика менее результативна, чем методы выявления антигена или генетического материала вируса. Так, с момента регистрации первых очагов инфекции в 2007 г. и по настоящее время при исследовании проб сывороток крови свиней с применением иммуноферментного анализа (ИФА) лишь у небольшого числа животных обнаружены антитела к вирусу АЧС [11].

Однако не исключена возможность и имеются доказательства появления ослабленных вариантов вируса АЧС, а заражение ими может не приводить к быстрой гибели свиней. Различные исследования показывают, что в эндемичных по АЧС районах снижается летальность и увеличивается число случаев бессимптомного и хронического течения, что в дальнейшем может потребовать коррекции стратегии применяемых методов диагностики и борьбы [12, 13].

Кроме того, на крупных свиноводческих предприятиях, где имеется так называемый естественный технологический отход, легкое или бессимптомное течение инфекции может оставаться незамеченным до нескольких недель [12]. Это обуславливает значимость проведения диагностических исследований, направленных на обнаружение антител к вирусу АЧС, что должно способствовать снижению риска распространения болезни.

Поэтому, чтобы определить реальную эпизоотическую ситуацию по АЧС, необходима быстрая, эффективная и надежная лабораторная диагностика. При этом помимо выявления генома вируса в полимеразной цепной реакции (ПЦР) необходимо проведение серологических исследований, направленных на выявление антител. Установлено, что если в начале эпизоотии большее число серопозитивных к АЧС животных выявляют среди молодняка, то к поздним фазам эпизоотического процесса серопревалентность выше у животных старших возрастных групп. Данный факт, вероятно, связан с присутствием инфицированных, а не переболевших кабанов [14].

Считается, что вследствие высокой вирулентности вируса АЧС его циркуляция на территории Российской Федерации сопровождается низкой серопревалентностью [15]. Тем не менее серологические исследования могут способствовать раннему обнаружению заболевания у дикого кабана и увеличить эффективность диагностических исследований путем параллельного использования с вирусологическими (молекулярно-биологическими) методами диагностики, что позволит снизить потенциальные разрушительные последствия распространения АЧС [5].

Применение этих методов требует соответствующей инфраструктуры и техники быстрого обнаружения серопозитивных кабанов [16]. Одним из возможных решений может являться применение иммунохроматографических методов [15, 17]. Однако они дороги для проведения масштабных скрининговых исследований и не всегда применимы [18]. Альтернативным решением является обнаружение антител в тканях внутренних органов (селезенки, легких, печени) либо в слюне инфицированных животных [19]. Из всех протестированных исследователями в 2008–2012 гг. пулов проб процент обнаружения антител в тканях свиней в реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) составил 45% [20]. Однако концентрация антител в таких образцах, как правило, не сопоставима с их концентрацией в сыворотке крови.

Сама по себе применяемая в данный момент технология отбора проб сыворотки крови в пробирки с активатором свертывания не лишена недостатков. Так, большую проблему представляет гемолиз, поскольку в полевых условиях затруднительно соблюдать технологию подготовки и транспортировки проб, что может приводить к ложноположительным результатам при проведении лабораторной диагностики.

На рынке имеется большое количество одноразовых расходных материалов для забора крови, содержащих компоненты, ускоряющие коагуляцию и облегчающие процесс отделения сыворотки от сгустка. Однако в инструкциях по применению не всегда приводится необходимая информация о составе и свойствах всех добавок. Вследствие чего возможны ошибки в результатах иммуноанализа при использовании систем забора крови, в основном при исследовании хрупких аналитов (цитокины и др.), в число которых антитела не входят. С другой стороны, некоторые добавки способны взаимодействовать с антителами и индуцировать их конформационные изменения независимо от типа используемой твердой фазы [21], что может приводить к уменьшению иммуноспецифической активности антител [22].

В Российской Федерации нередко случаи, когда охотники не отправляют биологический материал от добытых кабанов на исследования или не сообщают о случаях обнаружения павших животных, несмотря на то что это предписано действующими ветеринарными правилами [23]. Простое объяснение этому – отсутствие у них достаточного количества соответствующих расходных материалов и сложности отбора образцов крови у мертвых животных. В целях расширения надзора за АЧС в дикой природе, повышения вероятности обнаружения инфицированных животных и увеличения выборки может быть использован простой и недорогой способ отбора крови на фильтровальную бумагу (ФБ). Простота отбора

и транспортировки проб с использованием ФБ может помочь охотникам в решении логистических проблем по доставке проб в лабораторию [24]. Образцы крови можно отбирать без использования специального оборудования и специальной подготовки, в том числе от недавно отстрелянных животных. Данный подход позволит проводить исследования, направленные на выявление как возбудителя, так и антител к нему, используя один легкополучаемый в полевых условиях образец [25].

В то же время для вирусологических исследований успешно применяются зонд-тампоны, что особенно важно при обнаружении трупов диких кабанов, так как их уничтожение является важным звеном противоэпизоотических мероприятий, а естественное разложение останков может занимать от нескольких дней в летний период до нескольких лет в соответствующих условиях [26].

Использование образцов на ФБ и зонд-тампонов для серологических исследований. Метод высушивания адсорбированной крови на ФБ с последующей эллюцией и исследованием различных аналитов успешно используется в диагностических исследованиях с 1927 г. [27].

В настоящее время ФБ является доступной альтернативой хранения биологических образцов, полученных для диагностики различных инфекционных заболеваний серологическими и молекулярно-биологическими методами. При этом чувствительность и специфичность твердофазного иммуноферментного анализа (ТФИФА) при использовании ФБ снижается по сравнению с применением сыворотки крови, хотя в большинстве случаев остается на приемлемо высоком уровне [25, 28–30]. Тем не менее пониженная чувствительность является потенциальным ограничением при исследовании образцов в протоколах, требующих применения неразбавленной сыворотки [28].

Современную ФБ можно разделить на 2 основных типа. Первый – носители, специально созданные для хранения и выделения нуклеиновых кислот. Данный вид ФБ пропитывают веществами, лизирующими клетки, денатурирующими белки, инактивирующими биологический материал и защищающими нуклеиновые кислоты от действия нуклеаз. Носители второго типа не содержат инактивационного компонента и могут быть использованы для выделения вируса и серологических исследований [31].

При сравнении эффективности выявления антител методом ИФА для проб крови, нанесенных на ФБ, и образцов сыворотки крови, полученной от свиней, результаты исследований показали сопоставимую чувствительность [31]. Также показано, что вирус АЧС из пропитанной кровью ФБ через 9 месяцев хранения при 37 °С выделяется на чувствительной культуре клеток и поддается генотипированию. Тем не менее использование ФБ при выявлении генетического материала сопровождается снижением чувствительности реакции [32].

Сыворотки крови могут длительно храниться в замороженном виде. Однако при их последующем исследовании отмечают прогрессирующее снижение количества выявляемых антител большинством используемых методов диагностики [28]. Различные исследования показали, что нанесенные на ФБ образцы могут храниться в течение относительно длительного периода с небольшим снижением титра в результате

разрушения антител. Методом иммуоблоттинга установлено, что снижение титра антител наблюдается на всем спектре выявляемых белковых эпитопов [33].

Важную роль в деградации аналита играют температура и влажность [29]. Например, титр антител к вирусу иммунодефицита человека снижается приблизительно на 15% в течение 30 сут хранения при комнатной температуре и неконтролируемой влажности. При более высоких температурах потеря титра увеличивается. Образцы, хранящиеся в контролируемых условиях влажности (с диссектантом) при комнатной температуре, остаются стабильными до 190 сут. При низкой температуре и влажности антитела к вирусу иммунодефицита человека на ФБ стабильны в течение не менее 56 месяцев [33].

В экспериментах P. S. Curry et al. при сравнении проб на ФБ после года экспозиции с пробами сыворотки крови, хранившейся замороженной в течение того же периода времени, чувствительность исследований с образцами на ФБ составила более 88% (кроме двух отдельных исследований), а специфичность – более 90% [28].

Общими рекомендациями для увеличения срока хранения является необходимость полного подсушивания крови, нанесенной на ФБ, хранение в недоступном для прямых солнечных лучей месте и при влажности не более 30%. Для непродолжительного хранения (до двух лет) при температуре 4 °С рекомендуется использовать пакеты с замком (zip-lock), диссектантом, индикатором влажности. Длительное хранение рекомендуется проводить при минус 70 °С [28, 33].

Таким образом, важным звеном диагностики различных инфекционных заболеваний является соблюдение температурных режимов при транспортировке образцов в лабораторию и их хранении. Например, по сообщениям Всемирной организации здравоохранения, в мире теряется более 50% произведенных вакцин. При этом потери препаратов в неоткрытых флаконах обычно связаны с проблемами холодовой цепи и логистики [34]. Двадцать пять процентов произведенных в мире вакцин доставляются в пункт назначения в различных стадиях деградации из-за нарушения условий во время доставки [35]. Более того, согласно сведениям Глобального альянса по вакцинам и иммунизации, половина медицинских учреждений в беднейших странах вообще не имеют электроснабжения, и только 10% обеспечивают электроэнергией на надежном бесперебойном уровне [36].

В то же время практика использования многими лабораториями зонд-тампонов для отбора проб на исследования различными методами (ПЦР, коммерческие наборы ИФА) демонстрирует универсальность полученных образцов, а также простоту их адаптации к условиям конкретной лаборатории.

Поэтому для пробоотбора зонд-тампоны и ФБ являются хорошей альтернативой сыворотке крови при проведении исследований на АЧС. Они имеют ряд преимуществ: от простоты обращения до возможности длительного хранения, а также возможности разделения и исследования образца, адсорбированного с использованием зонд-тампона или куска ФБ, для проведения требуемого количества повторных или дополнительных диагностических тестов. Таким образом, это практичный, недорогой и простой подход для эпизоотологического надзора за АЧС у дикого кабана [30].

Целью работы являлось экспериментальное подтверждение возможности использования в пробоотборе фильтровальной бумаги и зонд-тампонов для серологического исследования, направленного на обнаружение специфических антител к вирусу АЧС, а также сравнение различных методов исследования и отбора проб.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При проведении комплекса исследований и экспериментов использовались:

- домашние свиньи (помесные пород крупная белая, ландрас, дюрок), завезенные из благополучного по основному инфекционному болезням свиней хозяйства Владимирской области;
- дикие европейские кабаны (8 гол. в возрасте 3–4 мес.), завезенные из благополучного по АЧС хозяйства Костромской области;
- изоляты вируса АЧС: Шихобалово 10/13, выделенный от павшего дикого кабана на территории Юрьев-Польского района Владимирской области; Антоново 07/14, выделенный от домашней свиньи в деревне Лобок Невельского района Псковской области; Собинка 07/15, выделенный от дикого кабана в охотхозяйстве Владимирской области; слабовирулентный вирус АЧС 60-го пассажа, полученный на культуре клеток CV-1 – АЧС/ВНИИЖ/СВ-1/60;
- фильтровальная бумага класса 3 (Whatman®, Великобритания);
- зонд-тампон (тупфер, или сваб) с вискозным наконечником (Ningbo Greetmede Medical Instruments Co., Ltd, Китай).

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых в научных целях.

Иммуноферментный анализ проводили с использованием набора INgezim PPA Compac (Ingenasa, Испания) в соответствии с инструкцией к тест-системе.

Иммуноблоттинг проводили с использованием коммерческих реагентов (CISA INIA, Испания) в соответствии с инструкцией производителя.

Иммунопероксидазный метод (ИПМ) выявления антител к вирусу АЧС проводили в соответствии с методическими рекомендациями ФГБУ «ВНИИЖ»¹.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Во время постановки биопробы на диких кабанах и домашних свиньях, зараженных вирусом АЧС изолята Шихобалово 10/13 [3], проводили оценку возможности использования ФБ для отбора проб крови от павших диких кабанов с последующим обнаружением антител. Для этого через несколько часов после гибели животных во время патолого-анатомического вскрытия промокали ФБ несвернувшуюся кровь, вытекающую при

рассечении сосудов в процессе частичной эвисцерации, обычно у места входа сосудов в грудную полость. Поскольку после гибели животного в крови проходят комплексные биохимические процессы, отбор крови необходимо проводить в максимально короткие сроки. Желательно использовать цельную кровь, так как, несмотря на то что серосангвальная жидкость содержит антитела, она не эквивалентна цельной крови [28]. От домашних свиней отбирали парные пробы крови в пробирки с активатором свертывания и на ФБ.

Фильтровальную бумагу подсушивали при комнатной температуре в условиях вивария и помещали в отдельные пакеты с застежкой. Для пропитывания 1 см² ФБ требовалось около 0,5 см³ крови. Иммуноферментный анализ проводили через 3 дня после отбора проб. В продаже есть набор для выявления антител к АЧС ID Screen® African Swine Fever Indirect (IDvet, Франция), который имеет протокол для исследования высушенной на ФБ крови [24]. Также существуют специально изготовленные версии коммерческих наборов для исследования образцов на ФБ [31]. Однако в данном эксперименте опробована возможность использования набора INgezim PPA Compac (Ingenasa, Испания) с подтверждением в реакции иммуноблоттинга.

При исследовании методом иммуноблоттинга образца, отобранного от дикого кабана, наблюдали появление нескольких слабоокрашенных полос на нитроцеллюлозной мембране, что говорит об образовании иммунного комплекса на участках, содержащих белки вируса АЧС и, следовательно, о наличии антител в образце. Полосы не образуются при исследовании отрицательных образцов, отобранных на ФБ. При сравнении образцов, полученных от гипериммунного поросенка традиционным методом и с использованием ФБ, видно, что интенсивность окрашивания снижается на всех участках нитроцеллюлозной мембраны, сенсibilизированной специфическим антигеном. Однако образцы остаются положительными.

Исследовались различные методы использования ФБ. В первом случае бумага помещалась в буфер для образца в объеме 5 см³ на 5 см² площади ФБ, что является сопоставимым с соотношением, прописанным в инструкции к набору для сыворотки крови, и выдерживалась при комнатной температуре в течение 5 мин для элюции. Полученный элюат вносился в объеме 0,1 см³ на лунку в качестве исследуемых образцов.

Во втором случае ФБ, помещенная в буфер для образца, выдерживалась 3 мин в гомогенизаторе при активном перемешивании. Перед внесением в лунки микропланшета элюат центрифугировали для осаждения форменных элементов крови и частиц ФБ в течение 3 мин при 1000 g.

В третьем случае из сухой ФБ вырезали окружности диаметром около 3 мм и помещали в лунку микропланшета с внесенным буфером. По данным В. Г. Помеловой и соавт., в течение одного часа из диска диаметром 3,2 мм, помещенного в лунку сенсibilизированного микропланшета, экстрагируется более 90% антител [25]. Однако, учитывая среднюю емкость пропитывания ФБ, соотношение кровь:буфер составило примерно 1:30, что ниже рабочего разведения сыворотки используемого набора (1:2).

Для достоверного сравнения методов исследования образцов, полученных разными способами, необходи-

¹ Методические рекомендации по выявлению антител к вирусу африканской чумы свиней иммунопероксидазным методом: утв. ФГБУ «ВНИИЖ» 19.11.2020 № 68-20. Владимир: ФГБУ «ВНИИЖ»; 2019. 12 с.

Таблица 1

Сравнение чувствительности и специфичности ТФ ИФА и иммуноблоттинга при исследовании сыворотки крови и отобранной на фильтровальную бумагу крови

Table 1

Comparison of sensitivity and specificity of LP-ELISA and immunoblot analysis when testing sera and blood absorbed on filter paper

ТФ ИФА				Иммуноблоттинг		
образец крови на ФБ	сыворотка крови					
	Пол.	Отр.	Всего			
Пол.	16	5	21	3	1	4
Отр.	2	48	50	0	4	4
Всего	18	53	71	3	5	8

пол. – положительный результат (positive result);

отр. – отрицательный результат (negative result).

мо сопоставлять парные пробы крови, нанесенной на ФБ, и сыворотки крови, отобранной от живых животных. Однако в нашем опыте из-за высокой вирулентности вируса, приводящей к быстрой гибели, у животных не успевали выработаться антитела. В пробах крови, отобранных за 2 или 3 дня до гибели (6–12-е сут после заражения, согласно графику отбора проб – один раз в 3 дня), антител в сыворотке обнаружить не удалось. Поэтому исследование крови, нанесенной на ФБ во время вскрытия, проводили в ТФ ИФА и сравнивали с результатами иммуноблоттинга, так как данный метод является высокоспецифичным и высокочувствительным.

При сравнении результатов ТФ ИФА сыворотки крови, полученной от домашних свиней (зараженных вирусом АЧС изолятов Антоново 07/14 и Собинка 07/15), и крови, отобранной на ФБ при скарификации ушных вен, чувствительность составила 88,9% (при 95%-м доверительном интервале – от 65,3 до 98,6%), специфичность – 90,6% (79,3–96,9%).

Чувствительность метода с использованием вырезанных по диаметру лунок кругов из ФБ, помещенных непосредственно в лунку микропланшета с буфером, была низкой при исследовании в данном наборе. Ве-

роятно, этот метод можно рекомендовать только для использования в системах, допускающих высокое разведение образцов либо использующих усилители окрашивания. Метод без центрифугирования показал большое количество ложноположительных результатов. Лучшую чувствительность и специфичность показал метод с гомогенизацией и центрифугированием образца (табл. 1).

При рассмотрении результатов, представленных в таблице 1, видно, что использование ФБ приводит к появлению как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. При сравнении данных, полученных при исследовании методами иммуноблоттинга и ТФ ИФА отобранных на ФБ образцов крови, установлено, что одна отрицательная проба показала также ложноположительный результат и в ТФ ИФА.

Полученные в настоящем эксперименте результаты согласуются с данными, опубликованными Т. Randriamparany et al. [31], которые исследовали на АЧС образцы крови, собранные с помощью ФБ. В указанной работе также отмечено о незначительном снижении чувствительности. При этом авторы заключили, что метод отбора крови на ФБ является подходящим способом для сбора и хранения образцов.

В опытах, проведенных J. Carlson et al., при исследовании коммерческим набором для ИФА образцов крови, собранных с помощью зонд-тампонов, в сравнении с пробами сыворотки крови чувствительность составила 93,1% (95%-й доверительный интервал, 83,3–98,1%), специфичность – 100% (95,9–100,0%). На основании чего авторы заключили, что тупферы пригодны для отбора проб с последующим обнаружением антител к вирусу АЧС методом ИФА. Кроме того, полевые испытания зонд-тампонов при отборе проб от разложившихся туш диких кабанов в эндемичном районе Эстонии при постановке ПЦР также показали высокую точность результатов [26].

В текущих условиях, когда практически не проводится исследований на обнаружение антител к вирусу АЧС в образцах от дикого кабана, применение методов, упрощающих процедуру отбора проб от диких животных, даже с учетом некоторого снижения чувствительности, позволит собирать ценную информацию о динамике распространения АЧС. Поэтому была апробирована возможность выявления антител с использованием более чувствительного иммунопероксидазного метода (ИПМ).

Для сравнения способов отбора крови использовали ИПМ и ИФА. Пробы представляли собой кровь, взятую при скарификации ушных вен и нанесенную на зонд-тампоны (рис. 1), а также сыворотку, полученную из крови домашних свиней на 10-е и 31-е сут после заражения вирусом АЧС (изолят АЧС/ВНИИЗЖ/СВ-1/60). Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таким образом, использование ИПМ при исследовании образцов высушенной на зонд-тампоне крови (рис. 2) показало 100%-е совпадение с ИФА, в то время как ИПМ при исследовании сыворотки крови даже превзошел по чувствительности ИФА. Следовательно, отбор крови с применением тупферов может быть рекомендован для проведения исследований после соответствующей валидации. Данный метод будет особенно полезен для сбора информации об инфицированных диких кабанов, так как ее отсутствие

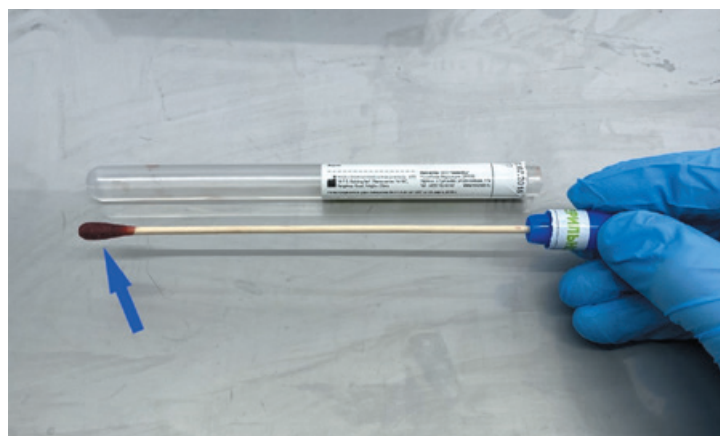


Рис. 1. Проба крови, нанесенная на зонд-тампон

Fig. 1. Blood sample absorbed on the swab

делает невозможным применение эффективных стратегий эрадикации АЧС.

Дикий кабан играет важную роль в распространении вируса АЧС. Надзор за болезнью может быть основан как на тестировании трупов павших животных (пассивное наблюдение), так и на обнаружении вируса или антител у отстрелянных/пойманных кабанов (активный надзор). Кабаны могут являться резервуаром сохранения инфекции, независимо от циркуляции вируса в популяции домашних свиней. При этом пассивное наблюдение обеспечивает более высокую вероятность раннего обнаружения АЧС, особенно в течение первого года на ранних стадиях эпизоотии.

Использование серологических методов тестирования имеет низкую диагностическую ценность на начальных этапах эпизоотии. Тем не менее активное наблюдение, направленное на выявление серопозитивных кабанов, может быть предпочтительным на более поздних стадиях (в эндемическую фазу) эпизоотии [5].

Следовательно, для повышения эффективности эпизоотологического надзора за АЧС у дикого кабана, особенно на поздних этапах эпизоотии, необходимо проведение серологических исследований, при этом оправданно применение альтернативных методов пробоотбора.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Применение даже самых высокоточных диагностических методов может лимитироваться качеством предоставленных образцов. А поскольку требуется выявлять не только наличие антигена или генетического материала вируса АЧС, но и антител к нему, альтернативой может стать отбор крови на ФБ или зонд-тампоны. Таким образом можно проводить отбор проб от недавно павших и отстрелянных животных. У домашних свиней можно осуществлять забор проб крови путем простой скарификации ушной вены без использования пробирок, что уменьшает риск контаминации окружающей среды при их разрушении или непреднамеренном вскрытии, так как полученный образец пробы не текучий. Использование ФБ в качестве носителя образца может уменьшить объем пространства, необходимого для длительного хранения пробы в замороженном состоянии. К недостаткам такой пробоподготовки следует отнести снижение чувствительности используемых методов диагностики, однако использование ФБ позволяет увеличить массовый охват исследований для основных преследуемых целей надзора (раннее обнаружение, определение превалентности, доказательство благополучия субпопуляции). Поэтому концепция использования зонд-тампонов и ИПМ является весьма перспективной, а в ряде случаев и безальтернативной, особенно после соответствующей валидации и, возможно, подбора тупферов, обеспечивающих более эффективную адсорбцию образцов, что позволяет ее рекомендовать для обнаружения антител к вирусу АЧС у дикого кабана и домашних свиней. Данный подход сочетает в себе преимущества использования ФБ с высокой чувствительностью и специфичностью данного диагностического метода.

Применение ФБ или зонд-тампонов наиболее целесообразно при проведении массовых обследований популяций целевых животных в рамках надзора за АЧС (в т. ч. при проведении государственного мониторинга). Сбор образцов крови таким способом может

Таблица 2

Сравнение результатов исследования сыворотки крови и нанесенной на зонд-тампон пробы крови в ИФА и иммунопероксидазным методом

Table 2

Comparison of results of serum and blood swab testing by ELISA and immunoperoxidase technique

Срок после заражения, сут	ИФА (сыворотка крови)	ИПМ (зонд-тампоны)	ИПМ (сыворотка крови)
10	+	1:20	1:320
10	+	1:5160	1:81920
10	–	–	1:20
10	+	1:640	1:640
31	+	1:20	1:320
31	+	1:1280	1:20480
31	+	1:1280	1:10240
31	+	1:80	1:5160
31	+	1:160	1:40960
31	+	1:160	1:81920

выполняться в любом месте минимально обученным персоналом, при отсутствии необходимости поддержания холодовой цепи.

Существуют различные специальные виды ФБ и зонд-тампонов, поэтому необходимо проведение подбора материала, обеспечивающего эффективную адсорбцию образца, оптимальную стоимость сбора, транспортировки и хранения проб. Перед использованием потребуется калибровка под соответствующую систему исследования либо диагностический набор.

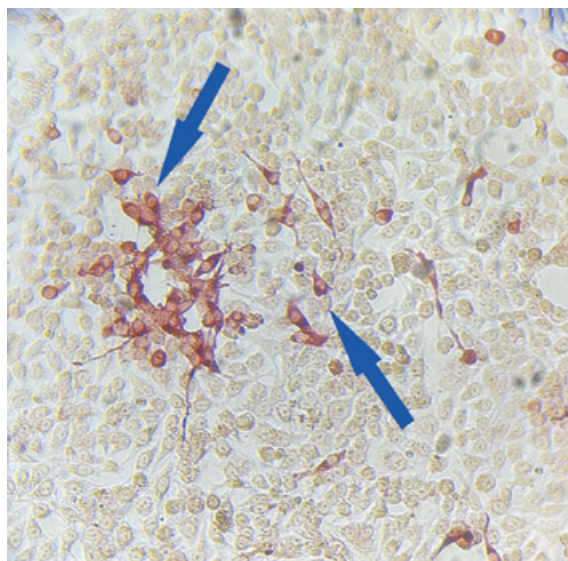


Рис. 2. Окрашивание цитоплазмы инфицированных клеток при исследовании пробы крови, нанесенной на зонд-тампон (увеличение ×400)

Fig. 2. Stained cytoplasm of infected cells when testing blood samples from swabs (magnification 400×)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Груздев К. Н., Иголкин А. С., Рахманов А. М., Шевцов А. А. Африканская чума свиней в России: распространение и клинико-анатомическое проявление. *Ветеринария сегодня*. 2014; (4): 10–24. Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22445544>.
2. 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): 46–51. Режим доступа: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/260>.
3. Шевченко И. В., Ремыга С. Г., Першин А. С., Иголкин А. С., Рахманов А. М. Клинико-анатомическое проявление африканской чумы свиней при заражении разными методами вирусом, выделенным от дикого кабана. *Современные проблемы патологической анатомии, патогенеза и диагностики болезней животных: материалы 18-й Международной научно-методической конференции*. М.: МГАВМиБ им. К. И. Скрябина; 2014: 82–84. eLIBRARY ID: 22496854.
4. Schoder M. E., Tignon M., Linden A., Vervaeke M., Cay A. B. Evaluation of seven commercial African swine fever virus detection kits and three Taq polymerases on 300 well-characterized field samples. *J. Virol. Methods*. 2020; 280: 113874. DOI: 10.1016/j.jviromet.2020.113874.
5. Chenais E., Depner K., Guberti V., Dietze K., Viltrop A., Ståhl K. Epidemiological considerations on African swine fever in Europe 2014–2018. *Porcine Health Manag.* 2019; 5:6. DOI: 10.1186/s40813-018-0109-2.
6. Marcon A., Linden A., Satran P., Gervasi V., Licoppe A., Guberti V. R₀ estimation for the African swine fever epidemics in wild boar of Czech Republic and Belgium. *Vet. Sci.* 2019; 7 (1):2. DOI: 10.3390/vetsci7010002.
7. Груздев К. Н., Закутский Н. И., Диев В. И. Африканская чума свиней: современное состояние, эпизоотология и меры борьбы (аналитический обзор). *Ветеринарный врач*. 2017; 5: 3–8. Режим доступа: <http://vetvrach-vnivi.ru/attachments/5ac1ea7624c56.pdf>.
8. Iglesias I., Montes F., Jesús Muñoz M., Arias M., Gogin A., Kolbasov D., de la Torre A. Role of wild boars and domestic pigs in the spread of African swine fever in the Russian Federation (2007–2013). *8th Annual EPIZONE Meeting, 23–25 September 2014 Copenhagen, Denmark*. Режим доступа: <https://www.epizone-eu.net/en/Home/Sitemap/Annual-meeting-1/Abstract-book-and-poster-abstracts.htm>.
9. Макаров В. В., Гусев А. А., Гусева Е. В., Сухарев О. И., Коломыцев А. А. Природная очаговость африканской чумы свиней. *Ветеринарная патология*. 2011; 3: 9–18. Режим доступа: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/news/asf/asf_makarov/public2.pdf.
10. Фертиков В. И., Егоров А. Н., Тихонов А. Н., Колбасов Д. В., Хрипунов Е. М., Куриннов В. В. и др. Классическая и африканская чума свиней: стратегия профилактики в охотничьих угодьях России. *Сельскохозяйственная биология*. 2010; 4: 7–12. Режим доступа: <https://www.agriculture.ru/pdf/0131-6397/2010/4/7-12.pdf>.
11. 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.
12. Nurmoja I., Petrov A., Breidenstein C., Zani L., Forth J. H., Beer M., et al. Biological characterization of African swine fever virus genotype II strains from north-eastern Estonia in European wild boar. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): 2034–2041. DOI: 10.1111/tbed.12614.
13. Pershin A., Shevchenko I., Igolkin A., Zhukov I., Mazloum A., Aronova E., et al. 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.
14. Cerbule A. R. Prevalence and age structure of African swine fever survivor animals in the wild boar population during the epidemic in Estonia: Final Thesis Curriculum in Veterinary Medicine. Tartu; 2020. Режим доступа: <http://hdl.handle.net/10492/5775>.
15. Mur L., Igolkin A., Varentsova A., Pershin A., Remyga S., Shevchenko I., et al. Detection of African swine fever antibodies in experimental and field samples from the Russian Federation: implications for control. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (5):e436–440. DOI: 10.1111/tbed.12304.
16. Rodríguez-Prieto V., Vicente-Rubiano M., Sánchez-Matamoros A., Rubio-Guerri C., Melero M., Martínez-López B., et al. Systematic review of surveillance systems and methods for early detection of exotic, new and re-emerging diseases in animal populations. *Epidemiol. Infect.* 2015; 143 (10): 2018–2042. DOI: 10.1017/S095026881400212X.
17. Цибезов В. В., Терехова Ю. О., Верховский О. А., Першин А. С., Власова Н. Н., Иголкин А. С. и др. Эффективность иммунохроматографической тест-системы для быстрого выявления вируса африканской чумы свиней. *Ветеринария*. 2015; 5: 58–64. eLIBRARY ID: 23527048.
18. Новиков А. А., Исаев Д. В., Павлов П. М., Дежкин А. В., Пантелева О. А. Апробация экспресс-методов выявления возбудителей заболеваний охотничьих ресурсов в полевых условиях (АЧС). *Состояние среды обитания и фауна охотничьих животных России и сопредельных территорий: материалы II Международной, VII Всероссийской научно-практической конференции (10–11 марта 2016 г.)*. Балашиха; 2016: 381–386.
19. Середа А. Д., Дубровская О. А., Имадинов А. Р., Стрижакова О. М., Васильев А. П., Синдякова И. П., Луницин А. В. Лабораторная диагностика хронической и бессимптомной форм африканской чумы свиней. *Сельскохозяйственная биология*. 2016; 51 (4): 459–466. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.4.459rus.
20. Куриннов В. В., Белянин С. А., Васильев А. П., Стрижакова О. М., Лыска В. М., Ногина И. В. и др. Экспериментальные и полевые исследования специфических антител в тканях органов у инфицированных вирусом АЧС домашних свиней и кабанов с острым течением болезни. *Ветеринария Кубани*. 2012; 4: 9–11. Режим доступа: http://vetkuban.com/num4_20124.html.
21. Pendergraph G. E., Pendergraph C. B. *Handbook of Phlebotomy and Patient Service Techniques*. 4th ed. Baltimore: Williams&Wilkins; 1998; 245 p.
22. Власов Г. С., Пономарева А. М., Польшинцев Д. Г., Головаченко В. А., Фадин Д. В. Системы забора крови и интерференция в иммуноанализе. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2007; 4: 24–29.
23. Vergne T., Guinat C., Petkova P., Gogin A., Kolbasov D., Blome S., et al. Attitudes and beliefs of pig farmers and wild boar hunters towards reporting of African swine fever in Bulgaria, Germany and the Western Part of the Russian Federation. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (2):e194–204. DOI: 10.1111/tbed.12254.
24. Blome S., Goller K. V., Petrov A., Dräger C., Pietschmann J., Beer M. Alternative sampling strategies for passive classical and African swine fever surveillance in wild boar – extension towards African swine fever virus antibody detection. *Vet. Microbiol.* 2014; 174 (3–4): 607–608. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.09.018.
25. Помелова В. Г., Быченкова Т. А., Бекман Н. И., Козлова Е. Г., Воробьева Н. Н., Фризен В. И. Тестирование антител к вирусу клещевого энцефалита с применением высушенной на фильтровальной бумаге крови. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2008; 1: 50–55. eLIBRARY ID: 9943075.
26. Carlson J., Zani L., Schwaiger T., Nurmoja I., Viltrop A., Vilem A., et al. Simplifying sampling for African swine fever surveillance: Assessment of antibody and pathogen detection from blood swabs. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (1):e165–e172. DOI: 10.1111/tbed.12706.
27. Bang I. Mikromethoden zur Blutuntersuchung. In: *Mikromethoden zur Blutuntersuchung*. ed. by G. Blix. Munich: J. F. Bergmann-Verlag; 1922; 9–54. DOI: 10.1007/978-3-662-34421-7_1.
28. Curry P. S., Ribble C., Sears W. C., Orsel K., Hutchins W., Godson D., et al. Blood collected on filter paper for wildlife serology: evaluating storage and temperature challenges of field collections. *J. Wildl. Dis.* 2014; 50 (2): 308–321. DOI: 10.7589/2012-06-150.
29. Duncombe L., Commander N. J., Erdenlig S., McGiven J. A., Stack J. Investigating the use of protein saver cards for storage and subsequent detection of bovine anti-*Brucella abortus* smooth lipopolysaccharide antibodies and gamma interferon. *Clin. Vaccine Immunol.* 2013; 20 (11): 1669–1674. DOI: 10.1128/CVI.00033-13.
30. Wasniewski M., Barrat J., Combes B., Guiot A. L., Cliquet F. Use of filter paper blood samples for rabies antibody detection in foxes and raccoon dogs. *J. Virol. Methods*. 2014; 204: 11–16. DOI: 10.1016/j.jviromet.2014.04.005.
31. Randriamparany T., Kouakou K. V., Michaud V., Fernández-Pinero J., Gallardo C., Le Potier M. F., et al. African swine fever diagnosis adapted to tropical conditions by the use of dried-blood filter papers. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (4): 379–388. DOI: 10.1111/tbed.12295.
32. Каторкин С. А., Газаев И. Х., Кудряшов Д. А., Аронова Е. В., Бурдинская О. Н., Луницин А. В. и др. Использование «сухих пятен крови» для выявления ДНК вируса африканской чумы свиней с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. *Молекулярная диагностика – 2014: материалы VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (18–20 марта 2014 г.)*. Т. 2. М.: МБА; 452–453. eLIBRARY ID: 21410394.
33. Arya S. C. Stability of human immunodeficiency virus type 1 antibodies in whole blood-impregnated filter papers under various tropical conditions. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31 (3): 765–766. DOI: 10.1128/jcm.31.3.765-766.1993.
34. World Health Organization. Monitoring vaccine wastage at country level: guidelines for programme managers. WHO; 2005. Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/68463>.
35. CEIV Farma. How to become CEIV Pharma Certified. Режим доступа: https://www.iata.org/contentassets/494bc14afd-934b0193735e9a47091d72/iata_ceiv-pharma_how20to20become20ceiv-20pharma20certified.pdf.
36. GAVI Alliance. Report to the Programme and Policy Committee: GAVI's supply chain strategy framework, 9–10 October 2013.

REFERENCES

- Gruzdev K. N., Igolkin A. S., Rakhmanov A. M., Shevtsov A. A. African swine fever in Russia: spread, clinical and anatomical manifestations. *Veterinary Science Today*. 2014; 4: 10–24. Available at: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22445544>.
- 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): 46–51. Available at: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/260>. (in Russ.)
- Shevchenko I. V., Remyga S. G., Pershin A. S., Igolkin A. S., Rakhmanov A. M. Kliniko-anatomicheskoe proyavlenie afrikanskoi chumy svinei pri zarazhenii raznymi metodami virusom, vydelennym ot dikogo kabana = Clinical and anatomical manifestations of African swine fever when challenged with the wild boar virus using different routes. *Sovremennye problemy patologicheskoi anatomii, patogeneza i diagnostiki boleznei zhivotnykh: materialy 18-i Mezhdunarodnoi nauchno-metodicheskoi konferentsii = Current challenges of animal disease pathological anatomy, pathogenesis and diagnostics: Proceedings of the 18th International Scientific and Practical Conference*. Moscow: Moscow SAVMB; 2014; 82–84. eLIBRARY ID: 22496854. (in Russ.)
- Schoder M. E., Tignon M., Linden A., Vervaeke M., Cay A. B. Evaluation of seven commercial African swine fever virus detection kits and three Taq polymerases on 300 well-characterized field samples. *J. Virol. Methods*. 2020; 280:113874. DOI: 10.1016/j.jviromet.2020.113874.
- Chenais E., Depner K., Guberti V., Dietze K., Viltrop A., Ståhl K. Epidemiological considerations of African swine fever in Europe 2014–2018. *Porcine Health Manag.* 2019; 5:6. DOI: 10.1186/s40813-018-0109-2.
- Marcon A., Linden A., Satran P., Gervasi V., Licoppe A., Guberti V. R₀ estimation for the African swine fever epidemics in wild boar of Czech Republic and Belgium. *Vet. Sci.* 2019; 7 (1):2. DOI: 10.3390/vetsci7010002.
- Gruzdev K. N., Zakutsky N. I., Diev V. I. African swine fever: current state and epizootological features and prospects of prevention and control (review). *Veterinarian*. 2017; 5: 3–8. Available at: <http://vetvrach-vnivi.ru/attachments/5ac1ea7624c56.pdf>. (in Russ.)
- Iglesias I., Montes F., Jesús Muñoz M., Arias M., Gogin A., Kolbasov D., de la Torre A. Role of wild boars and domestic pigs in the spread of African swine fever in the Russian Federation (2007–2013). *8th Annual EPIZONE Meeting, 23–25 September 2014 Copenhagen, Denmark*. Available at: <https://www.epizone-eu.net/en/Home/Sitemap/Annual-meeting-1/Abstract-book-and-poster-abstracts.htm>.
- Makarov V. V., Gusev A. A., Guseva E. V., Sukharev O. I., Kolomytsev A. A. Prirodnyaya ochagovost' afrikanskoi chumy svinei = Natural nidality of African swine disease. *Veterinarnaya patologiya*. 2011; 3: 9–18. Available at: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/news/asf/asf_makarov/public2.pdf. (in Russ.)
- Fertikov V. I., Egorov A. N., Tikhonov A. N., Kolbasov D. V., Khripunov E. M., Kurinnov V. V., et al. Classical and African swine fever: about strategy for its prophylaxy on hunting territories in Russia. *Agricultural Biology*. 2010; 4: 7–12. Available at: <https://www.agricscience.ru/pdf/0131-6397/2010/4/7-12.pdf>. (in Russ.)
- 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 Russ.)
- Nurmoja I., Petrov A., Breidenstein C., Zani L., Forth J. H., Beer M., et al. Biological characterization of African swine fever virus genotype II strains from north-eastern Estonia in European wild boar. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): 2034–2041. DOI: 10.1111/tbed.12614.
- Pershin A., Shevchenko I., Igolkin A., Zhukov I., Mazloum A., Aronova E., et al. 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.
- Cerbule A. R. Prevalence and age structure of African swine fever survivor animals in the wild boar population during the epidemic in Estonia: Final Thesis Curriculum in Veterinary Medicine. Tartu; 2020. Available at: <http://hdl.handle.net/10492/5775>.
- Mur L., Igolkin A., Varentsova A., Pershin A., Remyga S., Shevchenko I., et al. Detection of African swine fever antibodies in experimental and field samples from the Russian Federation: implications for control. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (5):e436–440. DOI: 10.1111/tbed.12304.
- Rodríguez-Prieto V., Vicente-Rubiano M., Sánchez-Matamoros A., Rubio-Guerri C., Melero M., Martínez-López B., et al. Systematic review of surveillance systems and methods for early detection of exotic, new and re-emerging diseases in animal populations. *Epidemiol. Infect.* 2015; 143 (10): 2018–2042. DOI: 10.1017/S095026881400212X.
- Tsibezov V. V., Terekhova Yu. O., Verkhovsky O. A., Pershin A. S., Vlasova N. N., Igolkin A. S., et al. Efficacy of the immunochromatographic method for the rapid detection of African swine fever virus. *Veterinariya*. 2015; 5: 58–64. eLIBRARY ID: 23527048. (in Russ.)
- Novikov A. A., Isaev D. V., Pavlov P. M., Dezhkin V. A., Panteleeva O. A. Approbation of express-methods for detection of pathogens of hunting resources in the field (ASF). *Sostoyanie sredy obitaniya i fauna okhotnich'ikh zhivotnykh Rossii i sopredel'nykh territorii: materialy II Mezhdunarodnoi, VII Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (10–11 marta 2016 g.) = Conditions of game habitat and fauna in Russia and neighboring regions: Proceedings of II International, VII All-Russian Scientific and Practical Conference (March 10–11, 2016)*. Balashikha; 2016; 381–386. (in Russ.)
- Sereda A. D., Dubrovskaya O. A., Imatdinov A. R., Strizhakova O. M., Vasil'ev A. P., Sindryakova I. P., Lunitsin A. V. Laboratory diagnostics of chronic and asymptomatic forms of African swine fever. *Agricultural Biology*. 2016; 51 (4): 459–466. DOI: 10.15389/agrobiol.2016.4.459eng.
- Kurinnov V. V., Belyanin S. A., Vasilyev A. P., Strizhakova O. M., Ly-ska V. M., Nogina I. V., et al. Experimental and field researches of specific antibodies in tissues of the house pigs infected with virus ASF and wild boars with a sharp clinical course. *Veterinaria Kubani*. 2012; 4: 9–11. Available at: http://vetkuban.com/num4_20124.html. (in Russ.)
- Pendergraph G. E., Pendergraph C. B. Laboratory diagnostics of Phlebotomy and Patient Service Techniques. 4th ed. Baltimore: Williams&Wilkins; 1998; 245.
- Vlasov G. S., Ponomareva A. M., Polyntsev D. G., Golovachenko V. A., Fadin D. V. Sistemy zabora krovi i interferentsiya v immunoanalize = Blood sampling tools and interference during the immunoassay. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2007; 4: 24–29. (in Russ.)
- Vergne T., Guinat C., Petkova P., Gogin A., Kolbasov D., Blome S., et al. Attitudes and beliefs of pig farmers and wild boar hunters towards reporting of African swine fever in Bulgaria, Germany and the Western Part of the Russian Federation. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (2):e194–204. DOI: 10.1111/tbed.12254.
- Blome S., Goller K. V., Petrov A., Dräger C., Pietschmann J., Beer M. Alternative sampling strategies for passive classical and African swine fever surveillance in wild boar – extension towards African swine fever virus antibody detection. *Vet. Microbiol.* 2014; 174 (3–4): 607–608. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.09.018.
- Pomelova V. G., Bychenkova T. A., Bekman N. I., Kozlova E. G., Vorobyeva N. N., Frizcn V. I. Testing for antibodies to tick-borne encephalitis virus using blood dried on filter paper. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2008; 1: 50–55. eLIBRARY ID: 9943075. (in Russ.)
- Carlson J., Zani L., Schwaiger T., Nurmoja I., Viltrop A., Vilem A., et al. Simplifying sampling for African swine fever surveillance: Assessment of antibody and pathogen detection from blood swabs. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (1):e165–e172. DOI: 10.1111/tbed.12706.
- Bang I. Mikromethoden zur Blutuntersuchung. In: *Mikromethoden zur Blutuntersuchung*. ed. by G. Blix. Munich: J. F. Bergmann-Verlag; 1922; 9–54. DOI: 10.1007/978-3-662-34421-7_1.
- Curry P. S., Ribble C., Sears W. C., Orsel K., Hutchins W., Godson D., et al. Blood collected on filter paper for wildlife serology: evaluating storage and temperature challenges of field collections. *J. Wildl. Dis.* 2014; 50 (2): 308–321. DOI: 10.7559/2012-06-150.
- Duncombe L., Commander N. J., Erdenlig S., McGiven J. A., Stack J. Investigating the use of protein saver cards for storage and subsequent detection of bovine anti-*Brucella abortus* smooth lipopolysaccharide antibodies and gamma interferon. *Clin. Vaccine Immunol.* 2013; 20 (11): 1669–1674. DOI: 10.1128/CVI.00033-13.
- Wasniewski M., Barrat J., Combes B., Guiot A. L., Cliquet F. Use of filter paper blood samples for rabies antibody detection in foxes and raccoon dogs. *J. Virol. Methods*. 2014; 204: 11–16. DOI: 10.1016/j.jviromet.2014.04.005.
- Randriamparany T., Kouakou K. V., Michaud V., Fernández-Pinero J., Gallardo C., Le Potier M. F., et al. African swine fever diagnosis adapted to tropical conditions by the use of dried-blood filter papers. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (4): 379–388. DOI: 10.1111/tbed.12295.
- Katorkin S. A., Gazaev I. Kh., Kudryashov D. A., Aronova E. V., Burdinskaya O. N., Lunitsin A. V., et al. Ispol'zovanie «sukhikh pyaten krovi» dlya vyavleniya DNK virusa afrikanskoi chumy svinei s pomoshch'yu polimeraznoi tsepnnoi reaktsii v rezhime real'nogo vremeni = Use of “dry blood dots” for ASFV DNA detection using real-time polymerase reaction. *Molekulyarnaya diagnostika – 2014: materialy VIII Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (18–20 marta 2014 g.) = Molecular Diagnostics – 2014: Proceedings of VIII All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation (March 18–20, 2014)*. Vol. 2. Moscow: MVA; 452–453. eLIBRARY ID: 21410394. (in Russ.)
- Arya S. C. Stability of human immunodeficiency virus type 1 antibodies in whole blood-impregnated filter papers under various tropical conditions. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31 (3): 765–766. DOI: 10.1128/jcm.31.3.765-766.1993.
- World Health Organization. Monitoring vaccine wastage at country level: guidelines for programme managers. WHO; 2005. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/68463>.

35. CEIV Farma. How to become CEIV Farma Certified. Available at: https://www.iata.org/contentassets/494bc14afd934b0193735e9a47091d72/iata_ceiv-pharma_how20to20become20ceiv20pharma20certified.pdf.

36. GAVI Alliance. Report to the Programme and Policy Committee: GAVI's supply chain strategy framework, 9–10 October 2013.

Поступила в редакцию / Received 13.05.2021
Доработана после рецензирования / Revised 02.07.2021
Принята к публикации / Accepted 05.08.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Першин Андрей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Шотин Андрей Романович, аспирант, ведущий биолог референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Морозова Елизавета Олеговна, аспирант, 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.

Шевченко Иван Вячеславович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Шевцов Александр Анатольевич, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Власова Наталья Никифоровна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Andrey S. Pershin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Andrey R. Shotin, Post-Graduate Student, Leading Biologist, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Elizaveta O. Morozova, Post-Graduate Student, 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.

Ivan V. Shevchenko, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Alexander A. Shevtsov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Natalia N. Vlasova, Doctor of Science (Biology), Chief Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.



Сравнительная эффективность эймерицидных препаратов при лечении цыплят-бройлеров в условиях мелкотоварного производства

А. Б. Дагаева¹, Б. М. Махиева²

Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» (Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»), г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-4740-3654>, e-mail: nos4561@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-3166-9271>, e-mail: bahumahieva66@gmail.com

РЕЗЮМЕ

В настоящее время практически нет ни одного птицеводческого хозяйства, где бы не регистрировались эймериозы птиц, как моноинвазии, так и в ассоциации с криптоспориозами, сальмонеллезами и колибактериозами. С учетом этого факта борьба с данным заболеванием является актуальной задачей, которую необходимо решать комплексно, с применением различных эймериостатиков, антибиотиков и пробиотиков. Изыскание новых эффективных препаратов, обладающих широким спектром антипаразитарного действия, – одно из приоритетных направлений в борьбе с эймериозами птиц. В производственных условиях одной из птицефабрик Республики Дагестан на цыплятах-бройлерах провели сравнительные испытания различных комбинаций эймерицидных препаратов: соликокс + чиктоник, мадувет + тилозин и эйметерм + энрофлоксацин – с целью выявления их лечебной и профилактической эффективности. Для проведения исследований по принципу аналогов сформировали четыре группы цыплят-бройлеров: одна – контрольная и три – опытные – по 50 голов в каждой. В контрольной группе использовали схему лечебно-профилактических мероприятий, принятую в данном птицеводческом хозяйстве. Цыплята-бройлеры первой опытной группы получали препарат соликокс в дозе 2 мл на 1 л питьевой воды в сочетании с кормовой добавкой чиктоник в дозе 1 мл на 1 л воды в течение 4–5 дней. Цыплятам второй группы с кормом задавали препарат мадувет в дозе 3–5 мг/кг массы тела двукратно и тилозин в дозе 5 г порошка на 10 л воды один раз в сутки в течение 5 дней, при необходимости процедуру повторяли через 14–16 дней. Цыплята-бройлеры третьей группы два дня получали с водой 2,5%-й препарат эйметерм в дозе 7 мг/кг массы тела в комбинации с энрофлоксацином в дозе 3 мл на 1 л питьевой воды в течение 5–6 дней. Показано, что в опытных группах после применения эймерицидных препаратов наблюдали уменьшение количества клинически больных особей и снижение падежа, что способствовало улучшению зоотехнических показателей при выращивании цыплят-бройлеров. Экстенсивность и интенсивность препаратов в первой группе цыплят составила 89,2 и 96%, во второй группе – 87,6 и 94%, в третьей – 81,4 и 96% соответственно. У птиц контрольной группы наблюдали клинические признаки эймериоза в течение всего периода исследования, а показатели экстенсивности и интенсивности инвазии составили 87,6 и 42,6% соответственно.

Ключевые слова: эймериоз, кокцидиостатик, соликокс, чиктоник, мадувет, тилозин, эйметерм, энрофлоксацин, эффективность, помет, цыплята-бройлеры, живая масса, лечебная эффективность, ооциста, слепые отростки

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

Для цитирования: Дагаева А. Б., Махиева Б. М. Сравнительная эффективность эймерицидных препаратов при лечении цыплят-бройлеров в условиях мелкотоварного производства. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 295–300. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-295-300.

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Дагаева Асият Багаудиновна, научный сотрудник лаборатории по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», 367000, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88, e-mail: nos4561@mail.ru.

Comparative effectiveness of eimeriocidal products for treatment of broiler chickens in small scale production

A. B. Dagaeva¹, B. M. Makhieva²

Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-4740-3654>, e-mail: nos4561@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-3166-9271>, e-mail: bahumahieva66@gmail.com

SUMMARY

There is currently almost no poultry holding where avian eimerioses, both monoinvasions and those associated with cryptosporidiosis, salmonellosis and colibacteriosis, are not reported. In view of this, the disease control is an urgent challenge that shall be approached in its entirety, using various eimeriostats, antibiotics and probiotics. Searching for new effective products with broad-spectrum antiparasitic action is one of priorities in avian eimeriosis control. Comparative tests of different combinations of eimeriocidal products, namely solicox + chicktonic, maduvet + tylosin and eimterm + enrofloxacin, for their treatment and protective effectiveness were carried out under production conditions in broiler chickens of a poultry factory located in the Republic of Dagestan. To perform the tests, four groups of broiler chickens (one control group and three test groups, each comprising 50 chickens) were formed based on the principle of analogues. The treatment and prevention scheme adopted in the said poultry holding was used for the control group chickens. Test group 1 chickens were given solicox at a dose of 2 ml per 1 liter of drinking water in combination with chicktonic (a feed supplement) at a dose of 1 ml per 1 liter of water during 4–5 days. Group 2 chickens were given maduvet at a dose of 3–5 mg/kg of body weight with feed twice and tylosin at a dose of 5 g of powder per 10 liters of water once a day during 5 days; where necessary, the procedure was repeated in 14–16 days. Group 3 broiler chickens were given eimterm 2.5% at a dose of 7 mg/kg of body weight with water during 2 days in combination with enrofloxacin at a dose of 3 ml per 1 liter of drinking water during 5–6 days. It is shown that a decrease in the number of clinically diseased and dead chickens was observed in the test groups after the use of eimeriocidal products that helped to improve zootechnical parameters of reared broiler chicks. Product effectiveness and intensity in different groups of chickens were as follows: Group 1 – 89.2 and 96%, Group 2 – 87.6 and 94%, Group 3 – 81.4 and 96%, respectively. The clinical signs of eimeriosis were observed in the control group chickens throughout the entire period of studies, invasion extensity and intensity were 87.6 and 42.6%, respectively.

Keywords: eimeriosis, coccidiostat, solicox, chicktonic, maduvet, tylosin, eimterm, enrofloxacin, effectiveness, droppings, broiler chickens, live weight, treatment effectiveness, oocyst, caeca

Acknowledgements: The study was carried out with funding from the Ministry of Education and Science of the Russian Federation under the Programme of fundamental research activities of state academies of science for 2013–2020 within the framework of “Molecular biological and nanobiotechnological methods for development of new generation biologicals, technologies and their methods of application to control highly dangerous infectious, parasitic and non-contagious diseases of animals” research work.

For citation: Dagaeva A. B., Makhiyeva B. M. Comparative effectiveness of eimeriocidal products for treatment of broiler chickens in small scale production. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 295–300. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-295-300.

Transparency of financial activities: The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

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

For correspondence: Asiyat B. Dagaeva, Researcher, Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 367000, Russia, Republic of Dagestan, Makhachkala, Dakhadaeva, 88, e-mail: nos4561@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Эймериоз – одно из самых распространенных заболеваний в птицеводстве. Болезнь вызывают простейшие из рода *Eimeria*, которые, размножаясь в кишечнике, приводят к нарушению процессов пищеварения и всасывания, к обезвоживанию, кровоточивости стенок желудочно-кишечного тракта, что повышает вероятность инфицирования другими возбудителями. Эймериоз продолжает оставаться актуальной проблемой и сегодня. К сожалению, птицеводческих хозяйств, где бы не присутствовал этот паразит, практически нет. При нарушении ветеринарно-санитарных правил эймерии в течение короткого времени могут в огромных количествах накапливаться в птичниках, тем самым создавая постоянную угрозу возникновения и распространения инвазии, и нанося огромный ущерб. Многие отечественные и зарубежные ученые занимались этой проблемой [1–10].

Подобно многим паразитарным инфекциям, эймериоз поражает в основном молодняк, что связано с развитием у цыплят иммунитета в постнатальный период. По мнению многих исследователей, кокцидиозом болеют цыплята с 10-суточного до 3-месячного возраста [11, 12].

Заражение птиц чаще всего происходит в теплые и влажные периоды года, когда складываются благоприятные условия для созревания и сохранения во внешней среде экзогенных стадий эймерий. В южных регионах страны это поздняя осень, зима и ранняя вес-

на, а в северо-западной части России – поздняя весна, лето и ранняя осень.

По данным ряда исследователей, борьба с заболеванием осложняется тем, что у кур паразитирует 9 видов эймерий, обладающих различной чувствительностью к эймериостатикам. Определенный вид эймерий может заражать только один вид птиц и совершенно неопасен для другого, т. е. возбудители болезни моноотропны. С. К. Сванбаев [13] изучал морфологически схожие эймерии, выделенные от индеек и кур, и обнаружил их неидентичность, при этом перекрестного заражения не происходило.

Птица, переболевшая эймериозом, который был вызван одним видом эймерий, остается восприимчивой к заражению другим видом. В связи с коротким биологическим циклом и огромной продуктивностью эймерий доля массовых вспышек в современных птичниках постоянно растет, и на сегодняшний день заболевание считается самым экономически затратным.

Часто эймериозы встречаются в ассоциации с криптоспориозами, сальмонеллезами и колибактериозами, что представляет большую опасность для птицеводческих хозяйств различных форм собственности. Даже легкая форма эймериоза в сочетании с криптоспориозом при неполноценном кормлении и других неблагоприятных факторах наносит птицеводству значительный экономический ущерб. Экономические потери от эймериоза в мировом масштабе огромны и составляют в год

более трех миллиардов американских долларов [14, 15]. Наносимый ущерб складывается из затрат, связанных с падежом цыплят, замедлением роста и физического развития, сокращением мясной продуктивности, увеличением расходов на корм и лечение [16]. Поэтому постоянно совершенствуются и разрабатываются новые методы борьбы с данной инвазией [2, 5–7, 14, 16–27].

Длительное применение одних и тех же эймериостатиков приводит к появлению устойчивых форм кокцидий. Эта проблема освещается в работах многих отечественных и иностранных авторов [4, 22, 24, 28–32].

Учитывая данное обстоятельство, лечение необходимо проводить, чередуя различные препараты, соблюдая дозы и сроки их применения. В настоящее время борьба с ассоциативными формами эймериозов птиц является актуальной задачей, которую необходимо решать комплексно, с применением различных эймериостатиков, антибиотиков и пробиотиков. Важное значение приобретает поиск новых высокоэффективных эймериостатических препаратов, обладающих широким спектром антипаразитарного действия.

Целью настоящей работы было изучение сравнительной эффективности современных эймериоцидных препаратов при лечении цыплят-бройлеров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены в лаборатории по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД» и в АО «Птицефабрика «Махачкалинская», неблагополучном по эймериозам птиц.

В производственных условиях проводили испытание эймериоцидных препаратов в различных комбинациях: соликоккс + чиктоник, мадувет + тилозин и эйметерм + энрофлоксацин – с целью выявления их лечебной и профилактической эффективности.

Для проведения опыта по принципу аналогов отобрали 200 голов 14-суточных цыплят-бройлеров кросса «Росс-308», из которых сформировали четыре группы по 50 голов в каждой: одна контрольная и три опытные.

В контрольной группе использовали схему лечебно-профилактических мероприятий, принятую в данном птицеводческом хозяйстве.

Цыплята-бройлеры первой опытной группы получали препарат соликоккс в дозе 2 мл на 1 л питьевой воды и чиктоник в дозе 1 мл на 1 л воды в течение 4–5 дней.

Цыплятам второй группы с кормом задавали препарат мадувет в дозе 3–5 мг/кг массы тела двукратно, а также тилозин в дозе 5 г/кг порошка на 10 л воды один раз в сутки в течение 5 дней, при необходимости процедуру повторяли через 14–16 дней.

Цыплята-бройлеры третьей группы в течение 2 дней получали с водой 2,5%-й эйметерм в дозе 7 мг/кг массы тела (что эквивалентно 1 мл препарата на 1 л питьевой воды) и в течение 5–6 дней – энрофлоксацин в дозе 3 мл на 1 л питьевой воды.

Схема проведения опыта представлена в таблице 1.

Экспериментальная часть на животных проведена в соответствии с ГОСТ 33215-2014, принятым 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.

Таблица 1

Схема проведения опыта на цыплятах-бройлерах «Росс-308»

Table 1

The scheme of the experiment carried out in Ross-308 broiler chickens

Группы	Препарат	Количество цыплят, голов	Доза препарата и курс лечения
1-я опытная	соликоккс + чиктоник	50	2 мл/1 л воды + 1 мл/1 л воды в течение 4–5 дней
2-я опытная	мадувет + тилозин	50	3–5 мг/кг массы тела двукратно + 5 г/10 л воды один раз в сутки в течение 5 дней, при необходимости процедуру повторить через 14–16 дней
3-я опытная	эйметерм 2,5%-й + энрофлоксацин	50	7 мг/кг массы тела (эквивалентно 1 мл препарата на 1 л питьевой воды) + 3 мл/1 л воды в течение 5–6 дней
контрольная	—	50	—

Материалом для исследований служили образцы помета с подстилки и кормов, соскобы с пола и инвентаря, а также пробы слепых отростков павшей птицы.

Копрологические исследования помета цыплят проводили до начала опыта и на 20, 26, 36, 46-й дни после применения препаратов.

Интенсивность поражения птиц эймериями определяли по стандартизированному Н. П. Орловым методом Дарлинга, помет – по методу нативного мазка с подкрашиванием метиленовой синью и флотационно-центрифужным методом по Никитину и Брезу.

Степень зараженности, интенсивность (ИИ) и экстенсивность (ЭИ) эймериозной инвазии у цыплят-бройлеров опытных и контрольной групп устанавливали путем подсчета числа ооцист в 1 г помета с помощью камеры МакМастера или ВИГИС в 20 полях зрения микроскопа.

Интенсивность (ИЭ) эймериоцидных препаратов определяли по формуле:

$$\text{ИЭ} = \frac{K - П}{K} \times 100\%,$$

где K – средняя геометрическая количества ооцист у цыплят контрольной группы;

П – средняя геометрическая количества ооцист у цыплят опытной группы.

Экстенсивность (ЭЭ) препаратов определяли по количеству цыплят-бройлеров, которые полностью освободились от ооцист после лечения.

С целью обнаружения эймерий и морфологических изменений в пищеварительном тракте проводили выборочное патолого-анатомическое вскрытие цыплят.

Терапевтическую эффективность препаратов оценивали по результатам обнаружения эймерий в слепых отростках птицы, помете и соскобах с разных поверхностей производственных помещений при проведении копроскопических исследований.

Из производственных показателей учитывали сохранность поголовья каждого птичника, прирост массы тела и конверсию корма.

Статистическую обработку результатов испытания эймериостатиков проводили с помощью компьютерной программы «Биометрия».

Таблица 2

Результаты сравнительного изучения эффективности препаратов и некоторые зоотехнические показатели выращивания бройлеров

Table 2

The results of comparative studies of product effectiveness and some zootechnical parameters of reared broilers

Показатель	Группа			
	контроль	1-я опытная	2-я опытная	3-я опытная
До лечения				
Количество цыплят в группе, голов	50	50	50	50
Возраст цыплят, сут	16	16	16	16
Средний вес одного цыпленка в начале опыта, г	119	121	119	120
Количество ооцист в слепых отростках (среднее значение), экз. в п. з. м.	42,6 ± 3,2	35,8 ± 3,5	39,4 ± 3,8	37,6 ± 4,2
Количество ооцист в 20 пробах помета (среднее значение), экз. в п. з. м.	36,8 ± 2,6	31,4 ± 3,8	33,4 ± 3,2	34,7 ± 3,6
После лечения				
Пало цыплят за период наблюдения (46 дней), голов	17	2	3	2
Падеж, %	34	4	6	4
Количество ооцист в слепых отростках (среднее значение), экз. в п. з. м.	47,9 ± 5,3	2,4 ± 1,3	6,1 ± 1,1	3,3 ± 0,96
Количество ооцист в 20 пробах помета (среднее значение), экз. в п. з. м.	44,8 ± 4,2	1,9 ± 2,3	4,8 ± 1,7	2,1 ± 1,3
Интенсивность препаратов, %	—	95	88	94
Сохранность цыплят за период наблюдения (46 дней), %	66	96	94	96
Среднесуточный прирост живой массы за период наблюдения (46 дней), г	36	47	44	46
Расход корма на 1 кг прироста живой массы, в среднем за период наблюдения (46 дней), кг	2,46	2,1	2,2	2,15
Живая масса при убое, г	1725	2125	1980	2050

экз. в п. з. м — экземпляров в поле зрения микроскопа (number per microscope field of view).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показатели интенсивности и экстенсивности не всегда в полной мере характеризуют инвазионный процесс. Четкую картину заболевания можно получить при полном гельминтологическом вскрытии, учитывая состояние внутренних органов и степень поражения кишечного тракта птицы.

Результаты сравнительного изучения эффективности препаратов и некоторые зоотехнические показатели выращивания бройлеров за период наблюдения представлены в таблице 2.

В результате проведенных исследований установлено, что клинические признаки эймериоза у цыплят-бройлеров контрольной группы регистрировали в течение всего периода наблюдения, а у птиц опытных групп — только до начала проведения лечения. За 46 дней эксперимента в контрольной группе пало 17 голов цыплят-бройлеров, а сохранность составила 66%.

При вскрытии павших особей наиболее выраженные изменения выявляли в слепых отростках кишечника: цекальная полость заполнена сгустками крови, слизистая оболочка утолщена, местами наблюдаются

очаги некроза. Стенки двенадцатиперстной кишки утолщены, с точечными кровоизлияниями. Диагностировали тифлит и дуоденит.

Птицы опытных групп выглядели клинически здоровыми. В 1, 2, 3-й группах за весь период наблюдения (46 дней) пало 2, 3 и 2 цыпленка соответственно, т. е. сохранность поголовья составила 96, 94 и 96%. При вскрытии павших особей характерных для эймериоза птиц изменений во внутренних органах и кишечнике не выявляли.

Среднесуточный прирост за период наблюдения (46 дней) в контрольной группе составил 36 г, а в опытных — 47, 44, 46 г соответственно. Расход корма на 1 кг прироста живой массы в контроле — 2,46 кг, в опытных группах — 2,1, 2,2 и 2,15 кг соответственно. Средний живой вес одного цыпленка в конце лечения в контрольной группе составил 1725 г, а в опытных — 2125, 1980 и 2050 г соответственно, что на 114–400 г больше, чем в контроле.

За период выращивания цыплят контрольной группы отставали в росте и развитии, так и не добрав живого веса птиц опытных групп. Смертность контрольных цыплят была в 5–6 раз выше, чем у экспериментальных.

При проведении копрологических исследований в помете цыплят-бройлеров всех групп были обнаружены эймерии трех видов (*E. tenella*, *E. maxima*, *E. acervulina*) при интенсивности инвазии 42,6 ± 3,2 экземпляров в 20 полях зрения микроскопа в контрольной группе и 35,8 ± 3,5; 39,4 ± 3,8; 37,6 ± 4,2 — в опытных группах.

Установлено, что в опытных группах после применения испытуемых препаратов уровень падежа цыплят-бройлеров значительно снизился, количество ооцист в слепых отростках и 20 пробах помета уменьшилось до 2–6 экземпляров в поле зрения микроскопа. Результаты исследований показали, что препараты обладают выраженным эймериоцидным действием в отношении ооцист эймерий, а также высокой терапевтической эффективностью, которая после проведенного лечения для 1, 2 и 3-й опытных групп составила 95, 88 и 94% соответственно.

Данные по изучению экстенсивности (ЭИ), интенсивности (ИИ) инвазии эймерий и экстенсивности (ЭЭ), интенсивности (ИЭ) изучаемых эймериоцидных препаратов в динамике представлены в таблице 3.

В результате проведенных исследований установлено, что после применения препаратов экстенсивность и интенсивность инвазии на 46-й день исследования у цыплят 1-й группы были на уровне 9,3 и 1,1%, 2-й группы — 6,7 и 2,1%, 3-й группы — 7,3 и 1,5% соответственно.

Экстенсивность препаратов на 46-й день наблюдения у цыплят-бройлеров 1-й группы составила 89,2%, а интенсивность — 96%, во 2-й группе данные показатели имели значения 87,6 и 94%, в 3-й группе — 81,4 и 96% соответственно.

Экстенсивность и интенсивность инвазии у птиц контрольной группы к завершению эксперимента составляла 87,6 и 42,6% соответственно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что клинические признаки эймериоза регистрировали у цыплят-бройлеров контрольной группы в течение всего периода наблюдения, а у птиц опытных групп — только до начала проведения лечения. При

Таблица 3

Результаты изучения экстенсивности, интенсивности инвазии эймерий и экстенсивности, интенсивности изучаемых препаратов в разные периоды выращивания цыплят-бройлеров

Table 3

The results of studies of *Eimeria* invasion extensity and intensity and extenseffectiveness and intenseffectiveness of the studied products at different time points during broiler chicken rearing

Группа и препарат	Количество цыплят, голов	Экстенсивность и интенсивность (%) инвазии по срокам исследований				Экстенс- и интенсивность препаратов (%) по срокам исследования		
		20-й день	26-й день	36-й день	46-й день	26-й день	36-й день	46-й день
		ЭИ/ИИ	ЭИ/ИИ	ЭИ/ИИ	ЭИ/ИИ	ЭЭ/ИЭ	ЭЭ/ИЭ	ЭЭ/ИЭ
1-я опытная Соликок + чиктоник	50	15,1/2,6	14,4/2,2	13,7/2,1	9,3/1,1	74,3/93,1	75,9/95,6	89,2/96,0
2-я опытная Мадует + тилозин	50	16,2/2,8	16,0/2,5	10,0/2,9	6,7/2,1	77,2/86,9	77,8/91,9	87,6/94,0
3-я опытная Эймертерм 2,5%-й + энрофлоксацин	50	16,8/2,6	15,0/2,2	11,2/2,0	7,3/1,5	75,3/92,2	76,9/95,1	81,4/96,0
Контрольная	50	48,0/35,8	56,9/48,4	73,2/43,8	87,6/42,6	—	—	—

этом в контрольной группе пало 17 голов, а сохранность цыплят бройлеров составила 66%. Смертность от эймериоза у контрольных цыплят была в 5–6 раз выше, чем у экспериментальных.

Препараты соликок в дозе 2 мл на 1 л питьевой воды в сочетании с чиктоником в дозе 1 мл на 1 л воды при применении в течение 4–5 дней, а также 2,5%-й эймертерм при выпаивании с водой в дозе 7 мг/кг массы тела (что эквивалентно 1 мл препарата на 1 л питьевой воды) в комбинации с энрофлоксацином в дозе 3 мл на 1 л питьевой воды в течение 5–6 дней показали высокую терапевтическую эффективность при эймериозе цыплят-бройлеров.

Эффективность препарата мадует в дозе 3–5 мг/кг массы тела при двукратном применении в сочетании с тилозином в дозе 5 г порошка на 10 л питьевой воды один раз в сутки в течение 5 дней составила 94%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вершинин И. И. Кокцидиозы животных и их дифференциальная диагностика. Екатеринбург; 1996. 264 с.
- Бессарабов Б., Ковайкин А. Профилактика респираторных и паразитарных заболеваний. *Птицеводство*. 2008; 4: 57. eLIBRARY ID: 10334029.
- Кириллов А. И. Кокцидиозы птиц. М.: Россельхозакадемия. 2008. 229 с.
- Мишин В. С., Кадникова Г. Ф. Кокцидиоз кур. Средства и методы решения проблемы. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2011; 3: 16.
- Сафуллин Р. Т., Титова Т. Г., Нуртдинова Т. А. Комплексная программа против кокцидиозов птиц для снижения циркуляции резистентных форм эймерий на птицеводческой площадке. *Российский паразитологический журнал*. 2017; 41 (3): 288–297. eLIBRARY ID: 30162253.
- Badran I., Lukešová D. Control of coccidiosis and different coccidia of chicken in selected technologies used in tropics and subtropics. *Agricultura Tropica et Subtropica*. 2006; 39 (1): 39–43.
- Chapman H. D. Rotation programmes for coccidiosis control. *International Poultry Production*. 2007; 15 (1): 7–9.
- McDonald V., Shirley M. W. Past and future: vaccination against *Eimeria*. *Parasitology*. 2009; 136 (12): 1477–1489. DOI: 10.1017/S0031182009006349.
- Lilić S., Ilić T., Dimitrijević S. Coccidiosis in poultry industry. *Tehnoloģija mesa*. 2009; 50: 90–98.
- Jadhav B. N., Nikam S. V., Bhamre S. N., Jaid E. L. Study of *Eimeria necatrix* in broiler chicken from Aurangabad District of Maharashtra state India. *International Multidisciplinary Research Journal*. 2011; 1 (11): 11–12.
- Бакриева Р. М., Абдулмагомедов С. Ш., Дагаева А. Б., Гаджимуррадова З. Т., Мусаев А. М. Распространение, видовой состав, профилактика и лечение эймериоза птиц. *Горное сельское хозяйство*. 2018; 4: 156–159. DOI: 10.25691/GSH.2018.4.038.
- Елчиев Я. Я. Биохимическая оценка лечебной эффективности кокцидина при кокцидиозе кур. *Паразитология*. 1980; 14 (5): 452–456. Режим доступа: https://www.zin.ru/journals/Parazitologiya/content/1980/prz_1980_5_13_Elchiev.pdf.

13. Сванбаев С. К. Кокцидии и кокцидиозы животных Казахстана: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Алма-Ата; 1968. 54 с. Режим доступа: <https://viewer.rusneb.ru/ru/rsl01000791060?page=1&rotate=0&theme=white>.

14. Dalloul R. A., Lillehoj H. S. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. *Expert Rev. Vaccines*. 2006; 5 (1): 143–163. DOI: 10.1586/14760584.5.1.143.

15. Williams R. B. A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. *Int. J. Parasitol.* 1999; 29 (8): 1209–1229. DOI: 10.1016/S0020-7519(99)00086-7.

16. Илюшечкин Ю. П. Кокцидиозы в промышленном птицеводстве. *Птицеводство*. 1992; 1: 22–23.

17. Белозерова С. Вакцина коксак для профилактики кокцидиоза у бройлеров. *Болезни птиц в промышленном птицеводстве. Современное состояние проблемы и стратегия борьбы: материалы научно-практической конференции, посвященной памяти академика Россельхозакадемии Р. Н. Коровина*. СПб.: ВНИИП, 2007; 286–292.

18. Дагаева А. Б., Бакриева Р. М., Махиева Б. М. Эймериозы птиц: биология, распространение и меры борьбы в условиях Прикаспийского региона РФ. *Российский паразитологический журнал*. 2020; 14 (1): 29–34. DOI: 10.31016/1998-8435-2020-14-1-29-34.

19. Гиззатуллин Р. Р. Клинико-морфологическая оценка эффективности соединения «Дегельм-14» при эймериозе кур: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Нижний Новгород; 2013. 22 с. Режим доступа: <https://viewer.rusneb.ru/ru/rsl01005051860?page=1&rotate=0&theme=white>.

20. Кузнецов В. В. Влияние некоторых эймериостатиков и схем профилактики эймериоза на клинический статус и энтеробиоценоз цыплят-бройлеров: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Тюмень; 2006. 18 с.

21. Новиков П. В., Сафиуллин Р. Т. Методические положения по борьбе с эймериозом кур в фермерских и личных хозяйствах. *Российский паразитологический журнал*. 2015; 4: 109–113.

22. Орлов С. А. Профилактика кокцидиоза. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2011; 3: 17–18.

23. Ятусевич А. И., Мироненко А. И., Сандул В. М., Гиско А. В., Гурский В. Н., Слободян П. Д. и др. Максиган – новый противоэймериозный препарат. *Ученые записки УО ВГАВМ*. 2006; 42 (2): 253–255. Режим доступа: <https://repo.vsavm.by/bitstream/123456789/7469/1/z-2006-42-2-2-253-255.pdf>.

24. Ятусевич А. И., Борознов С. Л., Сандул А. В., Гиско В. Н. Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Республиканское объединение «Белптицепром», УО «ВГАВМ». Рекомендации по борьбе с эймериозом кур. Витебск: ВГАВМ; 2009. 30 с.

25. De Gussem M. Coccidiosis in poultry: review on diagnosis, control, prevention and interaction with overall gut health. In: *Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition*. 2007; 253–261.

26. Fitz-Coy S. H., Edgar S. A. Pathogenicity and control of *Eimeria mitis* infections in broiler chickens. *Avian Dis.* 1992; 36 (1): 44–48. PMID: 1567309.

27. Zhang M., Li X., Zhao Q., She R., Xia S., Zhang K., et al. Anticoccidial activity of novel triazine compounds in broiler chickens. *Vet. Parasitol.* 2019; 267: 4–8. DOI: 10.1016/j.vetpar.2019.01.006.

28. Abbas R., Iqbal Z., Blake D., Khan M., Saleemi M. Anticoccidial drug resistance in fowl coccidia: The state of play revisited. *World's Poultry Science Journal*. 2011; 67 (2): 337–350. DOI: 10.1017/S004393391100033X.

29. Peek H. W., Landman W. J. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. *Vet. Q.* 2011; 31 (3): 143–161. DOI: 10.1080/01652176.2011.605247.

30. Ruff M. D., Chute M. B., McLoughlin D. K. Resistance to monensin medication in *Eimeria tenella*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 1985; 52 (1): 114–118.
31. Bino Sundar S. T., Hari Krishnan T. J., Latha B. R., Sarath Chandra G., Senthil Kumar T. M. A. Anticoccidial drug resistance in chicken coccidiosis and promising solutions: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 2017; 5 (4): 1526–1529.
32. Usman J. G., Gadzama U. N., Kwaghe A. V., Madziga H. A. Anticoccidial resistance in poultry: A review. *New York Science Journal*. 2011; 4 (8): 102–109.

REFERENCES

1. Vershinin I. I. Koktsidiozy zhivotnykh i ikh differentsial'naya diagnostika = Animal coccidiosis and their differential diagnosis. Ekaterinburg; 1996. 264 p. (in Russ.)
2. Bessarabov B., Kovaikin A. Profilaktika respiratornykh i parazitarnykh zabolevaniy = Prevention of respiratory and parasitic diseases. *Ptitsevodstvo*. 2008; 4: 57. eLIBRARY ID: 10334029. (in Russ.)
3. Kirillov A. I. Koktsidiozy ptits = Avian coccidiosis. Moscow: Ros-sel'khozakademiiya. 2008. 229 p. (in Russ.)
4. Mishin V. S., Kadnikova G. F. Koktsidioz kur. Sredstva i metody resheniya problemy = Chicken coccidiosis. Tools and methods to deal with the problem. *Veterinariya sel'skhozajstvennykh zhivotnykh*. 2011; 3: 16. (in Russ.)
5. Safullin R. T., Titova T. G., Nurtudinova T. A. Complex program against the coccidiosis of birds to reduce the circulation of resistant forms of *Eimeria* spp. on the poultry ground. *Russian Journal of Parasitology*. 2017; 41 (3): 288–297. eLIBRARY ID: 30162253. (in Russ.)
6. Badran I., Lukešová D. Control of coccidiosis and different coccidia of chicken in selected technologies used in tropics and subtropics. *Agricultura Tropica et Subtropica*. 2006; 39 (1): 39–43.
7. Chapman H. D. Rotation programmes for coccidiosis control. *International Poultry Production*. 2007; 15 (1): 7–9.
8. McDonald V., Shirley M. W. Past and future: vaccination against *Eimeria*. *Parasitology*. 2009; 136 (12): 1477–1489. DOI: 10.1017/S0031182009006349.
9. Lilić S., Ilić T., Dimitrijević S. Coccidiosis in poultry industry. *Tehnologija mesa*. 2009; 50: 90–98.
10. Jadhav B. N., Nikam S. V., Bhamre S. N., Jaid E. L. Study of *Eimeria necatrix* in broiler chicken from Aurangabad District of Maharashtra state India. *International Multidisciplinary Research Journal*. 2011; 1 (11): 11–12.
11. Bakrieva R. M., Abdulmagomedov S. Sh., Dagayeva A. B., Gadzhimuradova Z. T., Musaev A. M. Distribution, species, treatment and prevention of poultry eimeriosis. *Gornoe sel'skoe khozaystvo*. 2018; 4: 156–159. DOI: 10.25691/GSH.2018.4.038. (in Russ.)
12. Elchiev Ja. Ja. Biochemical estimation of the medical efficiency of coccidin at poultry coccidiosis. *Parazitologiya*. 1980; 14 (5): 452–456. Available at: https://www.zin.ru/journals/Parazitologiya/content/1980/prz_1980_5_13_Elchiev.pdf. (in Russ.)
13. Svanbaev S. K. Koktsidii i koktsidiozy zhivotnykh Kazakhstana: avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk = Coccidia and coccidiosis of animals in Kazakhstan: author's abstract of Doctor of Science (Biology) thesis. Alma-Ata; 1968. 54 p. Available at: <https://viewer.rusneb.ru/ru/rsl01000791060?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
14. Dalloul R. A., Lillehoj H. S. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. *Expert Rev. Vaccines*. 2006; 5 (1): 143–163. DOI: 10.1586/14760584.5.1.143.
15. Williams R. B. A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. *Int. J. Parasitol.* 1999; 29 (8): 1209–1229. DOI: 10.1016/S0020-7519(99)00086-7.
16. Ilyushechkin Yu. P. Koktsidiozy v promyshlennom ptitsevodstve = Coccidiosis in poultry industry. *Ptitsevodstvo*. 1992; 1: 22–23. (in Russ.)
17. Belozerovala S. Vaksina koksabik dlya profilaktiki koktsidioza u broilerov = Coxabac vaccine for prevention of coccidiosis in broilers. *Bolezni ptits v promyshlennom ptitsevodstve. Sovremennoe sostoyaniye problemy i strategiya bor'by: materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi pamyati akademika Rossel'khozakademii R. N. Korovina = Avian diseases in*

poultry industry. The current status of the problem and combat policies: proceedings of the research-to-practice conference dedicated to the memory of R. N. Korovin, a Member of the Russian Academy of Agricultural Sciences. Saint Petersburg: VNIVIP, 2007; 286–292. (in Russ.)

18. Dagayeva A. B., Bakrieva R. M., Makhieva B. M. Eimeriosis in poultry: biology, spread and control measures in the Caspian Sea Region of the Russian Federation. *Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14 (1): 29–34. DOI: 10.31016/1998-8435-2020-14-1-29-34. (in Russ.)

19. Gizzatullin R. R. Kliniko-morfologicheskaya otsenka effektivnosti soedineniya «Degel'm-14» pri eimerioze kur: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk = Clinical and morphological evaluation of «Degelm-14» compound effectiveness against chicken eimeriosis: author's abstract of Candidate of Science (Veterinary Medicine) thesis. Nizhny Novgorod; 2013. 22 p. Available at: <https://viewer.rusneb.ru/ru/rsl01005051860?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)

20. Kuznetsov V. V. Vliyaniye nekotorykh eimeriostatikov i skhem profilaktiki eimerioza na klinicheskii status i enterobiotosenoz tsyplyat-broilerov: avtoref. dis. ... kand. vet. nauk = The effect of certain eimeriostats and eimeriosis prevention schemes on the clinical status and enterobiotocenosis of broiler chickens: author's abstract of Candidate of Science (Veterinary Medicine) thesis. Tyumen; 2006. 18 p. (in Russ.)

21. Novikov P. V., Safullin R. T. Methodical guidelines for the struggle against chicken eimeriosis in farms and private subsidiary holdings. *Russian Journal of Parasitology*. 2015; 4: 109–113. (in Russ.)

22. Orlov S. A. Profilaktika koktsidioza = Prevention of coccidiosis. *Veterinariya sel'skhozajstvennykh zhivotnykh*. 2011; 3: 17–18. (in Russ.)

23. Yatushevich A. I., Mironenko A. I., Sandul V. M., Gisko A. V., Gurskii V. N., Slobodyan P. D., et al. Maksiban – novyi protivoeimerioznyy preparat = Maxiban as a novel anti-eimeriosis product. *Uchenye zapiski Educational Establishment "Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine"*. 2006; 42 (2): 253–255. Available at: <https://repo.vsvvm.by/bitstream/123456789/7469/1/z-2006-42-2-253-255.pdf>. (in Russ.)

24. Yatushevich A. I., Boroznov S. L., Sandul A. V., Gisko V. N. Ministerstvo sel'skogo khozaystva i prodovol'stviya Respubliki Belarus'; Respublikanskoe ob'edinenie «Belptitseprom», UO «VGAVM». Rekomendatsii po bor'be s eimeriozom kur = Recommendations on chicken eimeriosis control. Vitebsk: VGAVM; 2009. 30 p. (in Russ.)

25. De Gussem M. Coccidiosis in poultry: review on diagnosis, control, prevention and interaction with overall gut health. In: *Proceedings of the 16th European Symposium on Poultry Nutrition*. 2007; 253–261.

26. Fitz-Coy S. H., Edgar S. A. Pathogenicity and control of *Eimeria mitis* infections in broiler chickens. *Avian Dis.* 1992; 36 (1): 44–48. PMID: 1567309.

27. Zhang M., Li X., Zhao Q., She R., Xia S., Zhang K., et al. Anticoccidial activity of novel triazine compounds in broiler chickens. *Vet. Parasitol.* 2019; 267: 4–8. DOI: 10.1016/j.vetpar.2019.01.006.

28. Abbas R., Iqbal Z., Blake D., Khan M., Saleemi M. Anticoccidial drug resistance in fowl coccidia: The state of play revisited. *World's Poultry Science Journal*. 2011; 67 (2): 337–350. DOI: 10.1017/S004393391100033X.

29. Peek H. W., Landman W. J. Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. *Vet. Q.* 2011; 31 (3): 143–161. DOI: 10.1080/01652176.2011.605247.

30. Ruff M. D., Chute M. B., McLoughlin D. K. Resistance to monensin medication in *Eimeria tenella*. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.* 1985; 52 (1): 114–118.

31. Bino Sundar S. T., Hari Krishnan T. J., Latha B. R., Sarath Chandra G., Senthil Kumar T. M. A. Anticoccidial drug resistance in chicken coccidiosis and promising solutions: A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 2017; 5 (4): 1526–1529.

32. Usman J. G., Gadzama U. N., Kwaghe A. V., Madziga H. A. Anticoccidial resistance in poultry: A review. *New York Science Journal*. 2011; 4 (8): 102–109.

Поступила в редакцию / Received 15.04.2021

Поступила после рецензирования / Revised 29.04.2021

Принята к публикации / Accepted 20.07.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Дагаева Асият Багаудиновна, научный сотрудник лаборатории по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Махиева Баху Магомедовна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Asiyat B. Dagaeva, Researcher, Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.

Bakhu M. Makhieva, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.



Генетический анализ нуклеотидных последовательностей гена нейраминидазы изолятов вируса высокопатогенного гриппа птиц А/Н5N8, выделенных на территории Российской Федерации в 2020 году

П. Б. Акшалова¹, Н. Г. Зиняков², А. В. Андриясов³, П. Д. Жестков⁴, З. Б. Никонова⁵, С. Н. Колосов⁶, И. А. Чвала⁷

¹ ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт» (ТОО «КазНИВИ»), г. Алматы, Казахстан

²⁻⁷ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0003-1520-1887>, e-mail: peri.akshalova@gmail.com

² <https://orcid.org/0000-0002-3015-5594>, e-mail: zinyakov@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-6314-2119>, e-mail: andriyasov_av@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-8204-280X>, e-mail: zhestkov@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0003-0090-9399>, e-mail: nikonova@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-8467-180X>, e-mail: kolosov@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, e-mail: chvala@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Грипп птиц является особо опасной болезнью вирусной этиологии, наносящей огромный экономический ущерб птицеводству. В настоящее время в популяциях домашних и диких птиц в различных странах мира достаточно часто выявляют высоковирулентный вирус гриппа с нейраминидазой подтипа N8. В статье представлены данные по изучению полных нуклеотидных последовательностей гена нейраминидазы изолятов вируса высокопатогенного гриппа птиц, выделенных во второй половине 2020 г. из патологического материала, поступившего из четырех регионов Российской Федерации. В результате проведенных исследований определен подтип выделенного вируса – N8. Согласно данным филогенетического анализа, изоляты вируса N8 относятся к группе 8C.4. При проведении филогенетического анализа по нейраминидазе также учитывали данные классификации по гемагглютиниру, согласно которой изоляты вируса H5N8 относятся к широко распространенной кладе 2.3.4.4. Вирусы данной клады впервые зарегистрированы в 2010 г. в Китае и продолжают циркулировать до настоящего времени. Также в работе приведены данные сравнительного анализа нуклеотидных последовательностей исследуемых изолятов и изолятов из международных баз данных GenBank и GISAID, выделенных в других странах в период с 2007 по 2020 г. В ходе проведения анализа аминокислотной последовательности исследуемых изолятов в позициях, которые влияют на резистентность к ингибиторам нейраминидазы, замен не обнаружено. Полные нуклеотидные последовательности гена нейраминидазы вируса гриппа птиц подтипа N8 изолятов A/domestic goose/Omsk/1521-1/2020, A/duck/Chelyabinsk/1207-1/2020, A/duck/Saratov/1578-2/2020, A/goose/Tatarstan/1730-2/2020 опубликованы в международных базах GenBank и GISAID. На основании анализа нуклеотидных последовательностей изученных изолятов показана постепенная эволюция вируса подтипа N8.

Ключевые слова: вирус гриппа птиц, ОТ-ПЦР, секвенирование, подтип нейраминидазы N8, филогенетический анализ, H5N8

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

Для цитирования: Акшалова П. Б., Зиняков Н. Г., Андриясов А. В., Жестков П. Д., Никонова З. Б., Колосов С. Н., Чвала И. А. Генетический анализ нуклеотидных последовательностей гена нейраминидазы изолятов вируса высокопатогенного гриппа птиц А/Н5N8, выделенных на территории Российской Федерации в 2020 году. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 301–307. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-301-307.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Акшалова Перизат Батырханкызы, кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных ТОО «КазНИВИ», 050000, Республика Казахстан, г. Алматы, проспект Райымбека, 223, e-mail: peri.akshalova@gmail.com.

Genetic analysis of nucleotide sequences of neuraminidase gene of highly pathogenic avian influenza A/H5N8 virus isolates recovered in the Russian Federation in 2020

P. B. Akshalova¹, N. G. Zinyakov², A. V. Andriyasov³, P. D. Zhestkov⁴, Z. B. Nikonova⁵, S. N. Kolosov⁶, I. A. Chvala⁷

¹ LLP "Kazakh Scientific-Research Veterinary Institute", Almaty, Kazakhstan

© Акшалова П. Б., Зиняков Н. Г., Андриясов А. В., Жестков П. Д., Никонова З. Б., Колосов С. Н., Чвала И. А., 2021

²⁻⁷ FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0003-1520-1887>, e-mail: peri.akshalova@gmail.com

² <https://orcid.org/0000-0002-3015-5594>, e-mail: zinyakov@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-6314-2119>, e-mail: andriyasov_av@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-8204-280X>, e-mail: zhestkov@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0003-0090-9399>, e-mail: nikonova@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-8467-180X>, e-mail: kolosov@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, e-mail: chvala@arriah.ru

SUMMARY

Avian influenza is a highly dangerous viral disease that causes huge economic damage to poultry farming. Currently, highly virulent influenza virus with N8 neuraminidase subtype is quite often detected in populations of domestic and wild birds in various countries of the world. The article provides data on complete nucleotide sequences of the neuraminidase gene of highly pathogenic avian influenza virus isolates recovered in the second half of 2020 from pathological material received from four regions of the Russian Federation. The conducted research showed that the subtype of the isolated virus was N8. According to the phylogenetic analysis, isolates of N8 virus belong to group 8C.4. During the phylogenetic analysis of the neuraminidase, we also took into account data on hemagglutinin classification, according to which H5N8 virus isolates belong to a widespread clade 2.3.4.4. Viruses of the clade were first registered in 2010 in China and they have been circulating up to now. The paper also provides data of a comparative analysis of nucleotide sequences of the studied isolates and the isolates from the international GenBank and GISAID databases, recovered in other countries from 2007 to 2020. During the analysis of the amino acid sequence of the studied isolates, no substitutions were found in the positions that affect resistance to neuraminidase inhibitors. The complete nucleotide sequences of the neuraminidase gene of the avian influenza virus subtype N8 (isolates A/domestic goose/OMSK/1521-1/2020, A/duck/Chelyabinsk/1207-1/2020, A/duck/Saratov/1578-2/2020, A/goose/Tatarstan/1730-2/2020) are published in the international GenBank and GISAID databases. Based on the analysis of the nucleotide sequences of the studied isolates, the article shows gradual evolution of the N8 subtype virus.

Keywords: avian influenza virus, RT-PCR, sequencing, N8 neuraminidase subtype, phylogenetic analysis, H5N8

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

For citation: Akshalova P. B., Zinyakov N. G., Andriyasov A. V., Zhestkov P. D., Nikonova Z. B., Kolosov S. N., Chvala I. A. Genetic analysis of nucleotide sequences of neuraminidase gene of highly pathogenic avian influenza A/H5N8 virus isolates recovered in the Russian Federation in 2020. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 301–307. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-301-307.

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

For correspondence: Perizat B. Akshalova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Researcher, Department of Epidemiological Monitoring and Risk Assessment of Viral Animal Diseases, LLP "Kazakh Scientific-Research Veterinary Institute", 050000, Republic of Kazakhstan, Almaty, prospekt Raiymbeka, 223, e-mail: peri.akshalova@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Неблагополучная ситуация по высокопатогенному гриппу птиц (ВПП) наблюдается в течение многих лет по всему миру. Начиная с 1996 г. эпизоотическое распространение получил высоковирулентный вирус гриппа птиц (ВГП) подтипа H5N1, выделенный от домашних гусей на одной из ферм в провинции Guangdong (Китай) [1]. В связи с заносом болезни на территорию Российской Федерации в 2005 г. и причинением значительного ущерба птицеводству страны были разработаны современные методы диагностики [2], в первую очередь предназначенные для выявления вируса A/H5N1. В период с 2016 по 2020 г. в России и во многих странах Азии, Африки и Европы регулярно регистрировали вспышки ВПП, вызванные вирусом подтипа H5N8.

Одно из первых упоминаний о ВПП подтипа H5N8 относится к 1983 г., когда вирус был выявлен у индеек в Ирландии [3, 4]. Следующий случай обнаружения вируса гриппа подтипа H5N8 зафиксирован в 2001 г. у диких птиц в штате Нью-Джерси (США) во время мониторинга окружающей среды, и с тех

пор в стране было зарегистрировано несколько спорадических случаев ВПП. После обнаружения в 2014 г. в Корее трех изолятов ВГП: A/breeder duck/Korea/Gochang1/2014 (H5N8), A/duck/Korea/Buan2/2014 (H5N8) и A/Baikal Teal/Korea/Donglim3/2014 (H5N8) – произошло глобальное распространение вируса подтипа H5N8 в США, а затем и в других странах Азии и Европы [5–8]. Индекс патогенности у данного вируса значительно выше, чем у вируса, выделенного в Ирландии [5]. По данным Y. J. Lee et al., высоковирулентные вирусы гриппа птиц подтипа H5N8, выявленные в Корее в 2014 г., произошли в результате реассортации вируса A/duck/Jiangsu/k1203/2010 (H5N8) с вирусами других подтипов, которые циркулировали в Китае в период с 2009 по 2012 г. [9]. Точное происхождение вируса, обнаруженного в 2010 г. в Китае, осталось неизвестным. К. Zhao et al. в своих исследованиях отмечают, что данный штамм, вероятно, представляет собой новый реассортант трех субтипов: H5N1 (высокая идентичность по генам PB1, PA, M, NS), H3N8 (по гену NA), H6N2 (ген NP) [10].

В конце 2016 г. эпизоотическая ситуация по высокопатогенному гриппу птиц на территории Российской Федерации обострилась. Так, с ноября по декабрь 2016 г. вспышки ВГП H5N8 среди домашних птиц были зарегистрированы в Астраханской, Ростовской областях, Краснодарском крае и Республике Калмыкия. В 2017 г. зафиксировано более 30 случаев выявления высоковирулентного вируса гриппа птиц подтипа H5N8 в стадах домашних птиц в 8 регионах: Ростовской, Московской, Нижегородской и Самарской областях, республиках Татарстан, Марий Эл, а также в Удмуртской и Чеченской республиках. В Краснодарском крае и Калининградской области установлены случаи гриппа у диких мигрирующих птиц, в Воронежской области – у птиц в зоопарке. Вспышки болезни нанесли огромный экономический ущерб промышленным хозяйствам Астраханской, Ростовской, Московской областей, Республики Татарстан [11].

В 2018 г. ВГП подтипа H5N8 был обнаружен у домашних птиц из Курской, Орловской, Воронежской, Смоленской, Саратовской, Самарской, Ульяновской, Пензенской, Нижегородской, Ростовской областей, республик Удмуртия, Марий Эл, Чувашия и Татарстан (более 80 случаев) [12].

Таким образом, вирусы гриппа подтипа H5N8, близкородственные первоначально выделенным в Южной Корее в начале 2014 г. изолятам, получили глобальное распространение. По информации, опубликованной МЭБ на 12 ноября 2020 г., зарегистрировано 265 вспышек высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N8 (111 – среди домашних, 154 – среди диких птиц) в странах Европы, Азии и Африки [13], в том числе в 12 регионах РФ: Костромской, Курганской, Омской, Ростовской, Самарской, Саратовской, Томской, Тюменской, Челябинской областях, Ханты-Мансийском автономном округе – Югре, Республике Татарстан, Карачаево-Черкесской Республике.

Целью данной работы являлось проведение генетического анализа нуклеотидных последовательностей гена нейраминидазы подтипа N8 изолятов вируса высокопатогенного гриппа птиц, выделенных в РФ в 2020 г., для получения актуальных сведений о генетическом родстве изолятов ВГП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирусы. В работе были использованы изоляты вируса гриппа птиц подтипа H5N8:

– A/duck/Chelyabinsk/1207-1/2020 – выделен от домашней утки в селе Песчаное Увельского района Челябинской области в конце июля 2020 г.;

– A/domestic goose/Omsk/1521-1/2020 – выделен от домашнего гуся в поселке Иртышский Омского района Омской области в сентябре 2020 г.;

– A/duck/Saratov/1578-2/2020 – выделен от домашней утки в Энгельсском районе Саратовской области в сентябре 2020 г.;

– A/goose/Tatarstan/1730-2/2020 – выделен от домашнего гуся в селе Мещеряково Буинского района Республики Татарстан в октябре 2020 г.

Выделение вируса проводили в 10–11-суточных СПФ-эмбрионах кур.

Праймеры. В работе использовали несколько систем праймеров, предназначенных для выявления РНК ВГП подтипа N8 и определения полной нукле-

отидной последовательности гена нейраминидазы (NA) изолятов ВГП подтипа N8 (ЗАО «Синтол», Россия).

Выделение РНК. Выделение РНК вирусов из аллантоисной жидкости куриных СПФ-эмбрионов, зараженных соответствующими изолятами, проводили с использованием набора «АмплиПрайм РИБО-сорб» (ООО «НекстБио», Россия) в соответствии с инструкцией по применению.

Полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Обратную транскрипцию с последующей амплификацией фрагментов гена NA для определения полной нуклеотидной последовательности изолятов ВГП подтипа N8 проводили в программируемых амплификаторах BioRad (Bio-Rad Laboratories, США). Синтез первой цепи комплементарной ДНК на вирусной РНК осуществляли с использованием РНК-зависимой ДНК-полимеразы из вируса миелобластома птиц (AMV Reverse Transcriptase). Реакцию проводили в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 1 мкл 10 мМ dNTP, 5 мкл 5х буфера, 3 мкл 25 мМ MgCl₂, по 1 мкл 10 мМ прямого и обратного праймера, 0,125 мкл фермента обратной транскриптазы (Promega, США), 0,25 мкл Taq-полимеразы, 8,625 мкл воды, свободной от РНКаз, 5 мкл раствора суммарной РНК. Для предотвращения испарения смеси поверх нее наслаивали 15 мкл минерального масла Mineral Oil Light White (MP Biomedicals, Франция). Реакционную смесь инкубировали в амплификаторе при 50 °С в течение 25 мин для наработки первой цепи кДНК. Далее прогревали при 95 °С в течение 10 мин. Последующие 39 циклов стандартной ПЦР проводили при следующем температурном режиме: денатурация при 95 °С – в течение 50 с, отжиг праймеров при 55 °С – в течение 50 с, элонгация при 72 °С – в течение 1 мин.

Анализ продуктов амплификации проводили методом электрофореза в 1%-м агарозном геле, окрашенном бромистым этидием.

Очистка продуктов ПЦР. Амплифицированные в ПЦР фрагменты кДНК очищали с помощью набора Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System (Promega, США) в соответствии с инструкцией производителя.

Секвенирование ДНК. Определение первичной нуклеотидной последовательности фрагментов гена NA ВГП осуществляли на автоматическом секвенаторе ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) с использованием набора BigDye™ Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, США) согласно инструкции производителя.

Филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы BioEdit, версия 7.0.5.3 (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>). Для сравнения полных последовательностей гена NA выделенных изолятов использовали последовательности гена NA штаммов ВГП/N8, полученные из международных баз данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/FLU/FLU.html>) и GISAID.

Построение филогенетического дерева проводили с помощью алгоритма NJ (в том числе с использованием метода численного ресэмплинга бутстреп) в реализации пакета MEGA, версия 7.0.26.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одной из главных задач данного исследования было получение актуальных сведений о генетическом

родстве изолятов ВГП, выделенных в 2020 г. на территории РФ, а также их сравнение с другими ВГП подтипа N8.

На первом этапе работы были определены нуклеотидные последовательности гена нейраминидазы четырех выделенных изолятов вируса гриппа и проведен их сравнительный анализ с размещенными в международных базах данных последовательностями ВГП подтипа N8 из Евразии и Африки.

Как правило, при генетической характеристике вирусов гриппа птиц ориентируются на систему классификации по гемагглютинуину, которая была внедрена рабочей группой ВОЗ/МЭБ/ФАО и широко используется исследователями сообществом. Согласно литературным источникам, официальной регламентированной классификации по нейраминидазе не существует. Единственная публикация, где подробно описана классификация подтипов нейраминидазы, была подготовлена в 2012 г. американскими учеными из Университета Небраски [14]. Однако с тех пор произошли значительные генетические изменения вирусов гриппа птиц, получена большая масса новых данных, что ставит вопрос о дополнении предложенной системы классификации [15–17]. Введение официальной системы классификации вирусов является непростой задачей и требует тщательного анализа всех имеющихся в базе нуклеотидных последовательностей генов изолятов, проведения выравниваний, построения филогенетических деревьев и на их основе – обозначения клад и субклад. Еще более сложный вопрос – будет ли новая система номенклатуры вирусов принята и использована учеными, изучающими вирус гриппа.

По данным J. Xu et al., нейраминидаза подтипа N8 подразделяется на три линии, каждой из которых присвоено буквенное обозначение: 8A, 8B, 8C [14]. Линия 8A является «североамериканской», линия 8B представлена вирусами, выделенными от лошадей, а к 8C относится «евразийская» линия. Однако на сегодняшний день деления на линии явно недостаточно для описания вирусов, выявленных за несколько последних лет. Например, в данную классификацию не вошли вирусы подтипа H5N8, которые впервые были выделены в Китае в 2010 г. и впоследствии получили широкое распространение в Юго-Восточной Азии, а затем в России, Европе и Северной Америке. Поэтому при проведении филогенетического анализа выделенных в 2020 г. российских изолятов учитывали данные классификации и по нейраминидазе, и по гемагглютинуину, описанные в публикациях.

Для сравнительного и филогенетического анализов нуклеотидных последовательностей гена NA изолятов ВГП подтипа N8, полученных в настоящем исследовании, использовали последовательности известных штаммов данного подтипа, относящиеся к разным генетическим группам из баз данных GenBank и GISAID. В работе рассматривали 92 нуклеотидных последовательности гена нейраминидазы размером 1370 н.о.

На основе полных последовательностей гена NA ВГП подтипа N8 была построена дендрограмма (рис.), включающая вирусы, выделенные на территории Российской Федерации, Китая, Таиланда, Вьетнама, Кореи, Англии и других стран в период с 2007 по 2020 г. Статистическую достоверность топологии филогенетических деревьев проверяли с помощью бутстреп-анализа, вычисления проводили для 500 повторов.

Представленные в работе российские изоляты ВГП H5N8 на рисунке выделены красным шрифтом. Филогенетическое дерево, построенное на основе нуклеотидных последовательностей гена NA, показало наличие четырех различных групп. Исходя из классификации нейраминидазы, разработанной J. Xu et al., можно сделать вывод, что все использованные в исследовании изоляты относятся к «евразийской» линии 8C, которая по прошествии времени разделилась на несколько отдельных групп. Обозначение групп и подгрупп, отчетливо отраженных на дереве, было выполнено самостоятельно на примере классификации нейраминидазы других подтипов, также разработанной J. Xu et al. [14]. В результате каждой группе была присвоена нумерация, согласно которой первая группа названа 8C.1, вторая – 8C.2, третья и четвертая – 8C.3 и 8C.4 соответственно. В группы 8C.1, 8C.2 и 8C.3 вошли изоляты вируса низкопатогенного гриппа птиц.

В группу 8C.4 в основном вошли изоляты вируса высокопатогенного гриппа птиц, в том числе A/domestic goose/Omsk/1521-1/2020, A/duck/Saratov/1578-2/2020, A/duck/Chelyabinsk/1207-1/2020, A/goose/Tatarstan/1730-2/2020.

Согласно классификации по гемагглютинуину, группа изолятов 8C.4 сопоставима с субкладой 2.3.4.4.b клады 2.3.4.4.

Анализ изолятов вируса гриппа птиц подтипа H5N8, выделенных в 2020 г., демонстрирует значительно большую гетерогенность относительно группы изолятов, выявленных в 2016–2017 гг. Так, изоляты A/mute swan/Kazakhstan/1-267-20-B/2020, A/barnacle goose/Germany-SH/AI02167/2020, A/chicken/England/030720/2020, A/chicken/Netherlands/20016597-026030/2020, A/domestic goose/Omsk/1521-1/2020, A/duck/Saratov/1578-2/2020, A/duck/Chelyabinsk/1207-1/2020 формируют очень гомогенную группу, распространение которой, предположительно, связано с миграцией диких птиц. Степень отличия между данными изолятами составляет 0,1–0,6%. Однако стоит отметить, что изоляты A/domestic duck/Poland/285/2020 и A/Mandarin duck/Korea/H242/2020, выделенные в Польше и Южной Кореи, демонстрируют значительно большие различия (4,1–4,9%). Кроме этого, интересен факт выявления изолята A/goose/Tatarstan/1730-2/2020, демонстрирующего высокое сходство с выделенными в 2017 г. изолятами вируса гриппа птиц того же подтипа H5N8 и отличающегося от большинства изолятов 2020 г. Уровень отличий изолята A/goose/Tatarstan/1730-2/2020 от остальных изолятов, выявленных в 2020 г., составил 3,3%, а его генетическое сходство с изолятом A/swan/Voronezh/2/2017 составило 0,6%.

При проведении сравнительного анализа изолятов ВГП подтипа H5N8 установлено, что максимальный уровень различий нуклеотидной последовательности гена NA внутри группы 8C.4 составил 9%.

Также был проведен анализ аминокислотной последовательности исследуемых изолятов. В литературных источниках указывают несколько аминокислот, замены которых могут влиять на резистентность ВГП к препаратам, ингибирующим нейраминидазную активность (занамивир, осельтамивир): E119Q (117 нумерация по N8), R292K (291 по N8), V116D (114 по N8), либо потенциальную чувствительность к осельтамивиру и перамивиру: H274Y (273 по N8) [18–20]. Замен в предсказанной аминокислотной последовательности по вышеуказан-

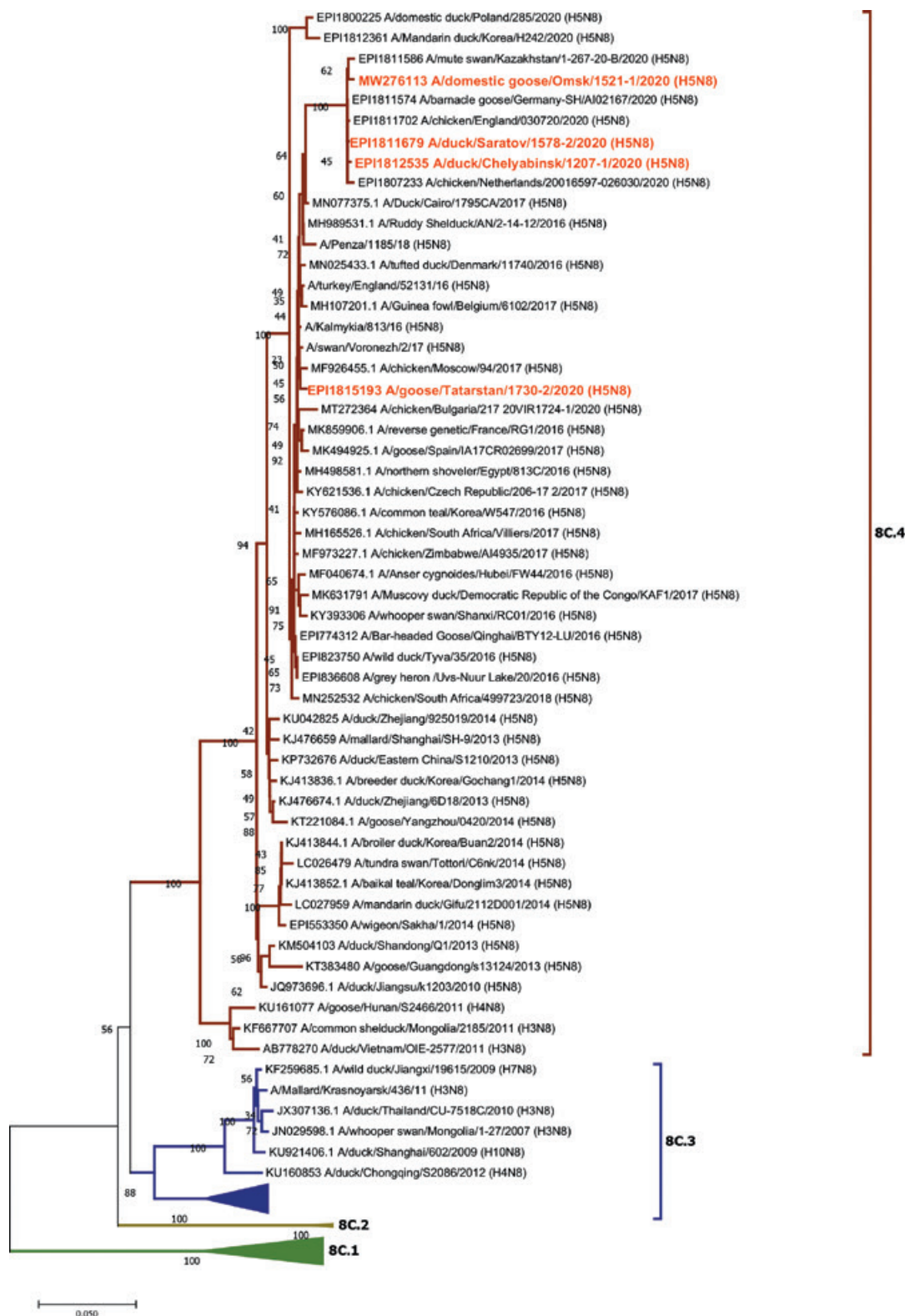


Рис. Филогенетическое дерево, построенное на основе нуклеотидных последовательностей гена NA изолятов ВГП подтипа N8

Fig. Phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of NA gene of HPAI subtype N8

ным позициям отмечено не было. Аминокислотные остатки, непосредственно участвующие в каталитической активности фермента, остались без изменений: R118 (116 по N8), D151 (149 по N8), R152 (150 по N8), R292 (291 по N8).

Проведенные сравнительный и филогенетический анализы изолятов ВГП/N8 указывают на непрерывающуюся эволюцию вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N8 в различных географических регионах.

Полученные нуклеотидные последовательности гена нейраминидазы ВГП подтипа N8 изолятов A/domestic goose/Omsk/1521-1/2020, A/duck/Chelyabinsk/1207-1/2020, A/duck/Saratov/1578-2/2020, A/goose/Tatarstan/1730-2/2020 были опубликованы в международных базах данных GenBank и GISAID (MW276113, EPI1812535, EPI1811679, EPI1815193).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлены нуклеотидные последовательности гена NA изолятов вируса ВГПГ A/H5N8: A/domestic goose/Omsk/1521-1/2020, A/duck/Chelyabinsk/1207-1/2020, A/duck/Saratov/1578-2/2020, A/goose/Tatarstan/1730-2/2020. Получены актуальные сведения о генетическом родстве по гену NA изученных изолятов ВГП подтипа N8 и изолятов, выделенных в период с 2007 по 2020 г. в РФ и других странах. Показана необходимость дополнения действующей классификации вирусов гриппа птиц внутри подтипа N8, обусловленная широким и быстрым распространением генетически близких вирусов гриппа птиц подтипа H5N8 в странах Европы, Азии, Африки в течение 2014–2017 гг.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Swayne D. E., Pantin-Jackwood M. Pathobiology of avian influenza virus infections in birds and mammals. In: *Avian Influenza*. Ed. by D. E. Swayne. Ames: Blackwell; 2008; 87–122.
- Мельнов С. Б., Лебедь Т. Л., Кипень В. Н. Основы молекулярно-генетического анализа. В кн.: *Современные проблемы биохимии. Методы исследований*. Е. В. Барковский и др.; под ред. проф. А. А. Чиркина. Минск: Высшая школа; 2013; 404–438.
- Murphy T. M. The control and epidemiology of an influenza A outbreak in Ireland. In: *Acute Virus Infections of Poultry. Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science*. Eds. J. B. McFerran, M. S. McNulty. Dordrecht: Springer; 1986; 37: 23–28. DOI: 10.1007/978-94-009-4287-5_2.
- El-Shesheny R., Barman S., Feeroz M., Hasan M., Jones-Engel L., Franks J., et al. Genesis of influenza A (H5N8) viruses. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23 (8): 1368–1371. DOI: 10.3201/eid2308.170143.
- Марченко В. Ю., Суслопаров И. М., Колосова Н. П., Гончарова Н. И., Шиповалов А. В., Дурыманов А. Г. и др. Выделение высокопатогенного вируса гриппа А субтипа H5N8 на территории республики Саха (Якутия). *Дальневосточный журнал инфекционной патологии*. 2015; (28): 38–43. Режим доступа: <https://infectpataog.elpub.ru/jour/article/view/127/128>.
- Lee D. H., Torchetti M. K., Winker K., Ip H. S., Song C. S., Swayne D. E. Intercontinental spread of Asian-origin H5N8 to North America through Beringia by migratory birds. *J. Virol.* 2015; 89 (12): 6521–6524. DOI: 10.1128/JVI.00728-15.
- Pohlmann A., Starick E., Harder T., Grund C., Höper D., Globig A., et al. Outbreaks among wild birds and domestic poultry caused by reassorted influenza A(H5N8) clade 2.3.4.4 viruses, Germany, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23 (4): 633–636. DOI: 10.3201/eid2304.161949.
- Dalby A. R., Iqbal M. The European and Japanese outbreaks of H5N8 derive from a single source population providing evidence for the dispersal along the long distance bird migratory flyways. *Peer J.* 2015; 3:e934. DOI: 10.7717/peerj.934.
- Lee Y. J., Kang H. M., Lee E. K., Song B. M., Jeong J., Kwon Y. K., et al. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses, South Korea, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20 (6): 1087–1089. DOI: 10.3201/eid2006.140233.
- Zhao K., Gu M., Zhong L., Duan Z., Zhang Y., Zhu Y., et al. Characterization of three H5N5 and one H5N8 highly pathogenic avian influenza viruses in China. *Vet. Microbiol.* 2013; 163 (3–4): 351–357. DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.12.025.
- Волков М. С., Ирза В. Н., Варкентин А. В. Опыт ликвидации высокопатогенного гриппа птиц на территории Российской Федерации в 2016–2017 гг. *Ветеринария сегодня*. 2018; (1): 3–10. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-1-24-3-7.
- Волкова М. А., Чвала Ир. А., Ярославцева П. С., Сосипаторова В. Ю., Осипова О. С., Чвала И. А. Серологический мониторинг гриппа птиц в Российской Федерации в 2017–2018 годах. *Ветеринария сегодня*. 2019; (2): 3–11. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-2-29-3-7.
- World Animal Health Information and Analysis Department. Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI). Report No. 17: October 23 to November 12, 2020. Available at: <https://www.oie.int/app/uploads/2021/03/hpai-asof12112020.pdf>.
- Xu J., Davis C. T., Christman M. C., Rivallier P., Zhong H., Donis R. O., Lu G. Evolutionary history and phylodynamics of influenza A and B neuraminidase (NA) genes inferred from large-scale sequence analyses. *PLoS One*. 2012; 7 (7): e38665. DOI: 10.1371/journal.pone.0038665.
- Kim Y. I., Pascua P. Q., Kwon H. I., Lim G. J., Kim E. H., Yoon S. W., et al. Pathobiological features of a novel, highly pathogenic avian influenza A(H5N8) virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2014; 3 (10): e75. DOI: 10.1038/emi.2014.75.
- Lee D. H., Sharshov K., Swayne D. E., Kurskaya O., Sobolev I., Kabilov M., et al. Novel reassortant clade 2.3.4.4 avian influenza A(H5N8) virus in wild aquatic birds, Russia, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23 (2): 359–360. DOI: 10.3201/eid2302.161252.
- Liu M., Li X., Yuan H., Zhou J., Wu J., Bo H., et al. Genetic diversity of avian influenza A (H10N8) virus in live poultry markets and its association with human infections in China. *Sci. Rep.* 2015; 5:7632. DOI: 10.1038/srep07632.
- Bialy D., Shelton H. Functional neuraminidase inhibitor resistance motifs in avian influenza A(H5Nx) viruses. *Antiviral Res.* 2020; 182:104886. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104886.
- Oladejo B. O., Bi Y., Vavricka C. J., Li C., Chai Y., Xu K., et al. Structural insight into the mechanism of neuraminidase inhibitor-resistant mutations in human-infecting H10N8 influenza A virus. *bioRxiv*. 2018; 378075. DOI: 10.1101/378075.
- Choi W. S., Jeong J. H., Kwon J. J., Ahn S. J., Lloren K. K. S., Kwon H. I., et al. Screening for neuraminidase inhibitor resistance markers among avian influenza viruses of the N4, N5, N6, and N8 neuraminidase subtypes. *J. Virol.* 2017; 92 (1): e01580-17. DOI: 10.1128/JVI.01580-17.

REFERENCES

- Swayne D. E., Pantin-Jackwood M. Pathobiology of avian influenza virus infections in birds and mammals. In: *Avian Influenza*. Ed. by D. E. Swayne. Ames: Blackwell; 2008; 87–122.
- Mel'nov S. B., Lebed' T. L., Kipen' V. N. Osnovy molekulyarno-geneticheskogo analiza = Basics of molecular genetic analysis. In: *Sovremennyye problemy biokhimii. Metody issledovaniy = Modern problems of biochemistry. Test methods*. E. V. Barkovskii et al.; ed. by prof. A. A. Chirkin. Minsk: Vysheishaya shkola; 2013; 404–438. (in Russ.)
- Murphy T. M. The control and epidemiology of an influenza A outbreak in Ireland. In: *Acute Virus Infections of Poultry. Current Topics in Veterinary Medicine and Animal Science*. Eds. J. B. McFerran, M. S. McNulty. Dordrecht: Springer; 1986; 37: 23–28. DOI: 10.1007/978-94-009-4287-5_2.
- El-Shesheny R., Barman S., Feeroz M., Hasan M., Jones-Engel L., Franks J., et al. Genesis of influenza A (H5N8) viruses. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23 (8): 1368–1371. DOI: 10.3201/eid2308.170143.
- Marchenko V. Yu., Susloparov I. M., Kolosova N. P., Goncharova N. I., Shipovalov A. V., Durymanov A. G., et al. Isolation of highly pathogenic influenza A (subtype H5N8) virus on the territory of Republic of Sakha (Yakutia). *Dal'nevostochnyy zhurnal infektsionnoy patologii*. 2015; (28): 38–43. Available at: <https://infectpataog.elpub.ru/jour/article/view/127/128>. (in Russ.)
- Lee D. H., Torchetti M. K., Winker K., Ip H. S., Song C. S., Swayne D. E. Intercontinental spread of Asian-origin H5N8 to North America through Beringia by migratory birds. *J. Virol.* 2015; 89 (12): 6521–6524. DOI: 10.1128/JVI.00728-15.
- Pohlmann A., Starick E., Harder T., Grund C., Höper D., Globig A., et al. Outbreaks among wild birds and domestic poultry caused by reassorted influenza A(H5N8) clade 2.3.4.4 viruses, Germany, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23 (4): 633–636. DOI: 10.3201/eid2304.161949.
- Dalby A. R., Iqbal M. The European and Japanese outbreaks of H5N8 derive from a single source population providing evidence for the dispersal along the long distance bird migratory flyways. *Peer J.* 2015; 3:e934. DOI: 10.7717/peerj.934.
- Lee Y. J., Kang H. M., Lee E. K., Song B. M., Jeong J., Kwon Y. K., et al. Novel reassortant influenza A(H5N8) viruses, South Korea, 2014. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20 (6): 1087–1089. DOI: 10.3201/eid2006.140233.
- Zhao K., Gu M., Zhong L., Duan Z., Zhang Y., Zhu Y., et al. Characterization of three H5N5 and one H5N8 highly pathogenic avian influenza viruses in China. *Vet. Microbiol.* 2013; 163 (3–4): 351–357. DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.12.025.
- Volkov M. S., Irza V. N., Varkentin A. V. History of highly pathogenic avian influenza eradication in Russian Federation in 2016–2017. *Veterinary Science Today*. 2018; (1): 3–10. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-1-24-3-7.
- Volkova M. A., Chvala Ir. A., Yaroslavtseva P. S., Sosipatorova V. Yu., Osipova O. S., Chvala I. A. Serological monitoring for avian influenza in the Russian Federation in 2017–2018. *Veterinary Science Today*. 2019; (2): 3–7. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-2-29-3-7.

13. World Animal Health Information and Analysis Department. Highly Pathogenic Avian Influenza (HPAI). Report No. 17: October 23 to November 12, 2020. Available at: <https://www.oie.int/app/uploads/2021/03/hpai-asof12112020.pdf>.
14. Xu J., Davis C. T., Christman M. C., Rivaller P., Zhong H., Donis R. O., Lu G. Evolutionary history and phylodynamics of influenza A and B neuraminidase (NA) genes inferred from large-scale sequence analyses. *PLoS One*. 2012; 7 (7):e38665. DOI: 10.1371/journal.pone.0038665.
15. Kim Y. I., Pascua P. Q., Kwon H. I., Lim G. J., Kim E. H., Yoon S. W., et al. Pathobiological features of a novel, highly pathogenic avian influenza A(H5N8) virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2014; 3 (10):e75. DOI: 10.1038/emi.2014.75.
16. Lee D. H., Sharshov K., Swayne D. E., Kurskaya O., Sobolev I., Kabilov M., et al. Novel reassortant clade 2.3.4.4 avian influenza A(H5N8) virus in wild aquatic birds, Russia, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23 (2): 359–360. DOI: 10.3201/eid2302.161252.
17. Liu M., Li X., Yuan H., Zhou J., Wu J., Bo H., et al. Genetic diversity of avian influenza A (H10N8) virus in live poultry markets and its association with human infections in China. *Sci. Rep.* 2015; 5:7632. DOI: 10.1038/srep07632.
18. Bialy D., Shelton H. Functional neuraminidase inhibitor resistance motifs in avian influenza A(H5Nx) viruses. *Antiviral Res.* 2020; 182:104886. DOI: 10.1016/j.antiviral.2020.104886.
19. Oladejo B. O., Bi Y., Vavricka C. J., Li C., Chai Y., Xu K., et al. Structural insight into the mechanism of neuraminidase inhibitor-resistant mutations in human-infecting H10N8 influenza A virus. *bioRxiv*. 2018; 378075. DOI: 10.1101/378075.
20. Choi W. S., Jeong J. H., Kwon J. J., Ahn S. J., Lloren K. K. S., Kwon H. I., et al. Screening for neuraminidase inhibitor resistance markers among avian influenza viruses of the N4, N5, N6, and N8 neuraminidase subtypes. *J. Virol.* 2017; 92 (1):e01580-17. DOI: 10.1128/JVI.01580-17.

Поступила в редакцию / Received 21.05.2021

Доработана после рецензирования / Revised 05.06.2021

Принята к публикации / Accepted 20.09.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Акшалова Перизат Батырханкызы, кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник отдела эпизоотологического мониторинга и оценки рисков вирусных болезней животных ТОО «КазНИВИ», г. Алматы, Республика Казахстан.

Зиняков Николай Геннадьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Жестков Павел Дмитриевич, аспирант, ведущий технолог референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Никонова Зоя Борисовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Колосов Сергей Николаевич, кандидат биологических наук, сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Perizat B. Akshalova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Researcher, Department of Epidemiological Monitoring and Risk Assessment of Viral Animal Diseases, LLP "Kazakh Scientific-Research Veterinary Institute", Almaty, Republic of Kazakhstan.

Nikolay G. Zinyakov, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

Pavel D. Zhestkov, Post-Graduate Student, Leading Technologist, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Zoya B. Nikonova, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Viral Avian Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Sergey N. Kolosov, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-308-316
УДК 619:616.98:578.832.1:639.12:616.036.22



Эпизоотологический мониторинг гриппа птиц на территории Республики Крым в 2019–2020 гг.

Д. В. Гадзевич¹, С. И. Данильченко², Н. Г. Воротилова³, М. А. Пасункина⁴, В. А. Уппе⁵, В. Н. Ирза⁶, М. С. Волков⁷, Н. Г. Зиняков⁸

^{1–5} Филиал ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» в Республике Крым (Филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым), г. Симферополь, Россия

^{6–8} ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-1750-6636>, e-mail: gadzevich@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-7796-7349>, e-mail: danylchenko@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-7309-4966>, e-mail: vorotilova@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-0921-0648>, e-mail: pasunkina@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-8235-355X>, e-mail: vikauppe@mail.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>, e-mail: irza@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-8819-0720>, e-mail: volkov_ms@arriah.ru

⁸ <https://orcid.org/0000-0002-3015-5594>, e-mail: zinyakov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты эпизоотологического мониторинга гриппа птиц на территории Республики Крым в 2019–2020 гг. При изучении циркуляции вируса гриппа птиц особое внимание уделено акваториям Азовского и Черного морей, заливу Сиваш и пресноводным озерам городского округа Феодосия, Ленинского, Советского, Нижегородского, Черноморского и Сакского районов. При обследовании вышеуказанных районов было отмечено обмеление и пересыхание некоторых пресноводных водоемов, деградация водной растительности. Анализ состояния обследуемых природных биотопов за 2019 и 2020 гг. показал снижение численности диких околородных птиц. Произведен отбор проб патологического материала от околородной и дикой перелетной птицы, а также от птиц, содержащихся на птицефабриках и в личных подсобных хозяйствах граждан. Полученные образцы исследовали методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с обратной транскрипцией. В 2019 г. в одной пробе помета от дикой птицы с озера Кучук-Аджиголь городского округа Феодосия обнаружен геном вируса гриппа А птиц подтипа Н9. В результате проведенных в 2020 г. лабораторных исследований патологического материала (остатки лебедя-шипуна), отобранного на береговой линии пресноводного озера вблизи с. Ермаково Джанкойского района, выявлен геном вируса гриппа А подтипа Н5. На базе ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) был проведен генетический анализ и определен подтип нейраминидазы выделенного изолята вируса гриппа – Н8. Сравнительный генетический анализ нуклеиновых последовательностей фрагмента гена Н длиной 258 н. о. вируса гриппа птиц показал, что выявленный изолят принадлежит к азиатской генетической линии вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа Н5 (клада 2.3.4.4), получившего эпизоотическое распространение в 2016–2020 гг. в странах Азии, Европы, Ближнего Востока и Африки.

Ключевые слова: дикая перелетная птица, околородная птица, грипп птиц, миграция, орнитофауна, эпизоотологический мониторинг

Благодарности: Работа выполнена за счет бюджетных средств при проведении государственного эпизоотологического мониторинга в рамках выполнения государственного задания (приказы Россельхознадзора от 28.12.2018 № 1519, от 25.12.2019 № 1423).

Для цитирования: Гадзевич Д. В., Данильченко С. И., Воротилова Н. Г., Пасункина М. А., Уппе В. А., Ирза В. Н., Волков М. С., Зиняков Н. Г. Эпизоотологический мониторинг гриппа птиц на территории Республики Крым в 2019–2020 гг. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 308–316. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-308-316.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Гадзевич Данил Викторович, ведущий ветеринарный врач лаборатории молекулярной диагностики ЛДЦ Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, 295494, Россия, г. Симферополь, пос. Комсомольское, ул. Шоссейная, 21а, e-mail: gadzevich@arriah.ru.

Epidemiological monitoring of avian influenza in the Republic of Crimea in 2019–2020

D. V. Gadzevich¹, S. I. Danylchenko², N. G. Vorotilova³, M. A. Pasunkina⁴, V. A. Uppe⁵, V. N. Irza⁶, M. S. Volkov⁷, N. G. Zinyakov⁸

^{1–5} FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol, Russia

^{6–8} FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-1750-6636>, e-mail: gadzevich@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-7796-7349>, e-mail: danylchenko@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-7309-4966>, e-mail: vorotilova@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-0921-0648>, e-mail: pasunkina@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-8235-355X>, e-mail: vikauppe@mail.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>, e-mail: irza@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-8819-0720>, e-mail: volkov_ms@arriah.ru

⁸ <https://orcid.org/0000-0002-3015-5594>, e-mail: zinyakov@arriah.ru

SUMMARY

The paper presents results of avian influenza epidemiological monitoring in the Republic of Crimea in 2019–2020. The attention was focused on the study of water basins of the Azov and Black Seas, the Sivash Lagoon and freshwater lakes in the Feodosia Urban Okrug, Leninsky, Sovetsky, Nizhnegorsky, Chernomorsky and Saksy Raions to detect the avian influenza virus circulation. Examination of the above mentioned areas showed that some freshwater reservoirs became shallow and dry, and aquatic vegetation degraded. The natural biotope analysis conducted in 2019 and 2020 showed a decreased number of semiaquatic wild birds. The pathological material was sampled from semiaquatic and migratory wild birds, as well as from poultry kept in poultry farms and backyards. The collected samples were tested using real-time RT-PCR. In 2019, the AIV type A (H9) genome was detected in one fecal sample taken from wild birds near Kuchuk-Adzhigol Lake in Feodosia Urban Okrug. The AIV type A (H5) genome was detected in 2020 during laboratory testing of pathological material taken from the remains of a mute swan within the shoreline of a freshwater lake near the Ermakovo settlement of the Dzhankovsky Raion. The genetic analysis was performed in the FGBI "ARRIAH" (Vladimir), and the N8 subtype neuraminidase of the influenza virus isolate was determined. The comparative genetic analysis of 258 bp nucleic acid sequences of the AIV H gene fragment showed that the identified isolate belongs to the Asian genetic lineage of highly pathogenic AIV subtype H5 (clade 2.3.4.4) associated with the epidemic spread in Asia, Europe, the Middle East and Africa in 2016–2020.

Keywords: wild migratory birds, semiaquatic birds, avian influenza, migration, bird fauna, epidemiological monitoring

Acknowledgements: The research was financed from the budget within the state epidemiological monitoring in the framework of the official program (Rosselkhoz nadzor Orders No. 1519 of December 28, 2018, and No. 1423 of December 25, 2019).

For citation: Gadzevich D. V., Danylchenko S. I., Vorotilova N. G., Pasunkina M. A., Uppe V. A., Irza V. N., Volkov M. S., Zinyakov N. G. Epidemiological monitoring of avian influenza in the Republic of Crimea in 2019–2020. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 308–316. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-308-316.

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

For correspondence: Danil V. Gadzevich, Leading Veterinarian, Laboratory for Molecular Diagnostics, Laboratory and Diagnostic Centre, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, 295494, Russia, Simferopol, pos. Komsomolskoye, Shosseynaya, 21a, e-mail: gadzevich@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Грипп птиц – высококонтагиозное вирусное заболевание птиц, подлежащее notiфикации Всемирной организации здравоохранения животных, наносит огромный экономический ущерб и представляет серьезную угрозу птицеводческим хозяйствам мира. Возбудителем является РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Orthomyxoviridae*, типу A (*Influenza* A). Всего известно шестнадцать различных антигенов гемагглютинаина (H1–H16) и девять различных антигенов нейраминидазы (N1–N9). Возбудитель гриппа птиц обладает уникальными способностями изменять свою антигенную структуру и преодолевать видовой барьер [1–8].

Вирус гриппа птиц устойчиво циркулирует в популяциях диких перелетных птиц многих стран. В природе резервуаром вируса являются преимущественно птицы водного и околоводного экологического комплекса [1, 2, 7–9]. Республика Крым, расположенная на перекрестке миграционных путей диких птиц из Азии в страны Европы, Африки и обратно, является местом остановок и зимовки многих видов диких околоводных птиц. Известно, что до 2014 г. в большей мере циркулировал вирус гриппа птиц подтипа H5N1, который стал причиной эпизоотии в Крыму в 2005–2006 и 2008 гг. [5, 10, 11]. В настоящее время широкое распространение в мире получил вирус гриппа птиц

подтипа H5N8, который был выявлен в популяциях домашних и диких птиц в странах Европы, Азии и Африки. В Российской Федерации вирус высокопатогенного гриппа H5N8 первоначально был выделен от павших диких птиц на оз. Убсу-Нур (Республика Тыва) в мае 2016 г. [2, 6–8, 9, 11–15]. Затем заболевание получило широкое распространение и регистрировалось как у диких, так и у домашних птиц в непосредственной близости к Крымскому полуострову, а именно: на территории Ростовской области, Краснодарского края, а также в Херсонской и Одесской областях Украины [3, 16]. Очередная волна эпизоотии, начавшаяся в августе 2020 г. в регионах Южного Урала и Западной Сибири, охватила к концу года большинство стран Европы. Текущая эпизоотия вызвана вирусами подтипов H5N8, H5N5, H5N4, H5N3, H5N1, относящимися к генетической линии 2.3.4.4, которая имеет ближневосточное происхождение [6–8].

С 2009 г. и по настоящее время на территории Крыма не сообщалось о случаях заболевания и гибели домашней и промышленной птицы от гриппа птиц. Но учитывая тот факт, что в 2017 г. на территории полуострова у лебедя-шипана был обнаружен генном вируса гриппа птиц (H5N8), а в 2018 г. получен положительный результат на грипп птиц (подтип H9) при исследовании продукции животного происхождения, завезенной из Пензенской области [11, 16], остается реальной угроза

интродукции вируса гриппа птиц в стада промышленного и приусадебного производства Республики Крым.

Поэтому проведение эпизоотологического мониторинга гриппа птиц на территории Республики Крым является актуальным.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на базе лаборатории молекулярной диагностики лабораторно-диагностического центра Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым в 2019–2020 гг.

Таблица 1
Отбор проб патологического материала от диких птиц в 2019 г.

Table 1
Pathological material sampling from wild birds in 2019

Дата отбора проб	Вид патологического материала	Количество проб	Место отбора
18.02.2019	Помет птиц (дикая фауна)	1	6,5 км от с. Знаменское (коса Беляус), побережье оз. Донузлав (45.346111, 32.954625)
	Лысуха (<i>Fulica atra</i>), чайка (<i>Larus</i>) (трупы)	4	
	Помет птиц (дикая фауна)	1	оз. Сасык-Сиваш, г. Евпатория (45.200887, 33.415658)
	Дикая птица (трупы)	9	оз. Панское, Черноморский район
01.08.2019	Помет птиц (дикая фауна)	5	3 км от с. Ермаково, Джанкойский район
	Чайка (<i>Larus</i>) (останки)	1	
	Помет птиц (дикая фауна)	25	5 км от с. Ермаково, Джанкойский район, побережье залива Сиваш
	Помет птиц (дикая фауна)	3	5 км от с. Томашевка, Джанкойский район, оз. Айгульское
	Помет птиц (дикая фауна)	8	3 км восточнее от с. Целинное, Джанкойский район
	Помет птиц (дикая фауна)	10	3 км от с. Мелководное, Джанкойский район, оз. Айгульское
08.08.2019	Помет птиц (дикая фауна)	1	район Аблямитского моста, оз. Донузлав
	Помет птиц (дикая фауна)	12	5 км от с. Знаменское, оз. Донузлав
	Помет птиц (дикая фауна)	6	5 км от с. Межводное, оз. Панское, Черноморский район
	Помет птиц (дикая фауна)	7	5 км от г. Евпатория, оз. Сасык-Сиваш
	Воробей (<i>Passeridae</i>) (труп)	1	
	Чайка (<i>Larus</i>) (останки)	1	
18.10.2019	Лебедь-шипун (<i>Cygnus olor</i>) (останки)	1	оз. Сасык-Сиваш (45.204513, 33.410529)
	Лебедь-шипун (<i>Cygnus olor</i>) (останки)	1	оз. Сасык-Сиваш (45.204128, 33.411204)
	Помет птиц (дикая фауна)	4	оз. Сасык-Сиваш
	Помет птиц (дикая фауна)	18	побережье оз. Донузлав, Аблямитский мост
	Помет птиц (дикая фауна)	15	побережье оз. Донузлав, коса Беляус, 5 км от с. Знаменское
25.11.2019	Помет птиц (дикая фауна)	27	оз. Кучук-Адзиголь, городской округ Феодосия
Всего		161	

Биологический материал от диких птиц отбирали во время экспедиций к побережью Азовского и Черного морей, заливу Сиваш и пресноводным озерам городского округа Феодосия, Ленинского, Советского, Нижегородского, Черноморского и Сакского районов совместно с сотрудниками Управления Россельхознадзора по Республике Крым и городу Севастополь (Россельхознадзор). Экспедиции осуществлялись согласно плану научно-исследовательской работы Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым и планам государственного эпизоотологического мониторинга.

При отборе образцов биоматериала от дикой птицы проводили идентификацию видов с использованием определителя птиц [17]. В ходе экспедиций оценивали состояние природных биотопов, производили подсчет численности орнитофауны на данной территории.

Материал в лабораторию доставляли в герметичных влагонепроницаемых термоконтейнерах с аккумуляторами холода в соответствии с действующими нормами. Лабораторные исследования проводили при помощи коммерческих тест-систем российского производства в соответствии с Ветеринарными правилами лабораторной диагностики гриппа А птиц [18].

Также в лабораторию Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым сотрудниками Россельхознадзора направлялись пробы биоматериала от диких птиц, отстрелянных в различных охотничьих угодьях Крыма, и от домашних птиц, содержащихся на птицефабриках и в личных подсобных хозяйствах граждан, а также пробы продуктов животного происхождения.

Выявление генома вируса гриппа птиц осуществляли проведением экстракции суммарной нуклеиновой кислоты из патологического материала, реакции обратной транскрипции полученной РНК и амплификации специфических участков полученной кДНК вируса гриппа А в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ОТ-ПЦР-РВ). Использовали коммерческую тест-систему «ГРИПП» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) для выявления и дифференциации вируса гриппа методом полимеразной цепной реакции (вирус гриппа А, *Influenza virus A*) и дифференциации подтипов (А H5, H7, H9), в состав которой входят наборы реагентов для экстракции РНК «АмплиПрайм РИБО-сорб», для проведения реакции обратной транскрипции «Реверта-Л» и реактивы для амплификации кДНК *Influenza virus A* и дифференциации подтипов (А H5, H7, H9) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Детекцию флуоресцирующего сигнала проводили с использованием амплификатора Rotor Gene Q (Qiagen, Германия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2019 г. Филиалом ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым совместно с сотрудниками Россельхознадзора было организовано 5 экспедиций, в ходе которых обследовано 8 районов Крыма (рис. 1) и отобрана 161 проба патологического материала от диких птиц (табл. 1). География отбора проб отображена на рисунке 1.

В феврале 2019 г. был зафиксирован массовый падеж дикой водоплавающей птицы на оз. Донузлав. В тот момент на данном водоеме наблюдалось значительное скопление лысухи (*Fulica atra*), порядка 8–10 тыс. особей, также присутствовали чайки (*Larus*), утки (*Anatinae*) и единично лебеди-шипуны (*Cygnus*



Рис. 1. Отбор проб патологического и биологического материала от диких околоводных птиц в 2019 г.

Fig. 1. Sampling of pathological and biological material from semiaquatic wild birds in 2019

● – места отбора проб патологического материала от диких птиц
(location of sites for pathological and biological material sampling from wild birds)

- | | | |
|-----------------------------------|--|--|
| 1. Симферополь (Simferopol) | 9. Советский р-н (Sovetsky Raion) | 16. Бахчисарайский р-н (Bakhchisaraysky Raion) |
| 2. Севастополь (Sevastopol) | 10. Нижнегорский р-н (Nizhnegorsky Raion) | 17. Сакский р-н (Saksky Raion) |
| 3. Ялта (Yalta) | 11. Джанкойский р-н (Dzhankoytsky Raion) | 18. Черноморский р-н (Chernomorsky Raion) |
| 4. Алушта (Alushta) | 12. Белгородский р-н (Belgorodsky Raion) | 19. Краснопереконский р-н (Krasnoperekopsky Raion) |
| 5. Судак (Sudak) | 13. Красногвардейский р-н (Krasnogvardeysky Raion) | 20. Оз. Донузлав (Donuzlav Lake) |
| 6. Феодосия (Feodosia) | 14. Первомайский р-н (Pervomaysky Raion) | 21. Оз. Сасык-Сиваш (Sasyk-Sivash Lake) |
| 7. Ленинский р-н (Leningy Raion) | 15. Раздольненский р-н (Razdolnensky Raion) | 22. Залив Сиваш (Sivash Lagoon) |
| 8. Кировский р-н (Kirovsky Raion) | | |

olor). На береговой линии было обнаружено большое количество, около 1,5–2,0 тыс., останков лысухи (*Fulica atra*) (рис. 2a, b) и единично – кряквы (*Anas platyrhynchos*), пеганки (*Tadorna tadorna*), черношейные поганки (*Podiceps nigricollis*), чайки хохотуны (*Larus cachinians*) (рис. 2c).

Кроме того, на побережье наблюдали лысух с клиническими признаками, характерными для острого течения гриппа птиц [19–21]: нарушение координации движений, искривление шеи и запрокидывание головы (рис. 3).

При вскрытии трупов лысух патолого-анатомических изменений не зафиксировано.

В Черноморском районе на оз. Панском, расположенном в 20 км от оз. Донузлав, было обнаружено 9 трупов дикой птицы (табл. 1): лысуха (*Fulica atra*) – 2, нырок (*Netta*) – 1, утка кряква (*Anas platyrhynchos*) – 4, утка свиязь (*Mareca penelope*) – 1, утка морская чернеть (*Aythya marila*) – 1. В других районах Крыма гибель дикой птицы не регистрировали. Также в ходе выездных экспедиций было отмечено снижение численности

диких перелетных птиц в сравнении с предыдущими годами, особенно на побережье залива Сиваш.

Всего во время экспедиции в феврале 2019 г. было отобрано 13 проб патологического материала и 2 пробы помета от дикой птицы (табл. 1). Геном вируса гриппа птиц в данных пробах не обнаружен.

В августе 2019 г. были организованы две выездные экспедиции в места скопления диких околоводных птиц, в ходе которых обследовали водоемы Джанкойского, Черноморского и Сакского районов Крыма (табл. 1). При исследовании отобранных 77 проб помета от диких птиц и 3 проб патологического материала (останки птиц) геном вируса гриппа птиц не обнаружен. Во время обследования вышеуказанных районов было отмечено, что пресноводные водоемы обмелели, а некоторые высохли полностью, повсеместно наблюдали деградацию водной растительности.

В ходе проведенной в октябре 2019 г. экспедиции были исследованы пресноводные озера Черноморского и Сакского районов, включая побережье Каркинитского залива Черного моря. Было отобрано 2 пробы



Рис. 2. Останки лысух (a, b) и труп чайки хохотуны (c) на озере Донузлав

Fig. 2. Remains of Eurasian coots (*Fulica atra*) (a, b) and a Caspian gull carcass (c) at the Donuzlav Lake



Рис. 3. Нарушение координации движений, искривление шеи и запрокидывание головы у лысух

Fig. 3. Eurasian coots demonstrating lack of movement coordination, head and neck twisting

патологического материала (лебедь-шипун) и 37 проб помета от дикой околотоводной птицы (табл. 1). Геном вируса гриппа птиц в данных пробах не выявлен.

Двадцать пятого ноября 2019 г. были обследованы пресноводные озера городского округа Феодосия, Ленинского и Советского районов, а также залив Сиваш. Дикую околотоводную птицу наблюдали только на оз. Кучук-Аджиголь городского округа Феодосия (рис. 1). При исследовании отобранных на данной территории 27 проб помета только в одной из них методом ОТ-ПЦР-РВ был выявлен геном вируса гриппа А птиц подтипа Н9.

Также в 2019 г. сотрудниками Россельхознадзора в лабораторно-диагностический центр филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» (Республика Крым) была доставлена 291 проба от птиц, отстрелянных в охотугодьях, и 548 проб от домашней птицы из разных районов Крыма. Геном вируса гриппа птиц в данных пробах не обнаружен.

Всего за 2019 г. в лаборатории молекулярной диагностики было исследовано 1000 проб патологического материала, из них 16,1% составили пробы, полученные от диких околотоводных птиц, 29,1% – от отстрелянных в охотугодьях диких птиц и 54,8% – от домашней птицы.

В 2020 г. Филиалом ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым совместно с сотрудниками Россельхознадзора были организованы 3 выездные экспедиции (зимне-весенний и осенне-зимний периоды) в места скопления дикой водоплавающей птицы, в ходе которых обследованы следующие районы Крымского полуострова: побережье залива Сиваш, пресноводные озера городского округа Феодосия, Ленинского, Советского, Нижнегорского, Джанкойского районов (рис. 4).

Для проведения исследований методом ОТ-ПЦР-РВ было отобрано 54 пробы от диких птиц, из них 2 пробы патологического материала (останки лебедя-шипуна – рис. 5а и сокола-балобана – рис. 5б) и 52 пробы помета от дикой птицы.

Пробы отбирали на побережье оз. Кучук-Аджиголь (городской округ Феодосия), Фронтном водохранилище (Ленинский район) и побережье пресноводного озера вблизи с. Ермаково (Джанкойский район) (табл. 2). В остальных обследуемых районах скопления птиц не обнаружено. По сравнению с 2019 г. численность диких околотоводных птиц сократилась, вероятнее всего, это связано с деградацией плавневого комплекса, уменьшением кормовой базы для диких птиц, изменением



Рис. 4. Отбор проб патологического и биологического материала от диких околотоводных птиц в 2020 г.

Fig. 4. Pathological and biological material sampling from semiaquatic wild birds in 2020

● – места отбора проб патологического материала от диких птиц
(location of sites for pathological material sampling from wild birds)

- | | |
|--|--|
| 1. Симферополь (Simferopol) | 5. Советский р-н (Sovetsky Raion) |
| 2. Феодосийский р-н (Feodosia Urban Okrug) | 6. Нижнегорский р-н (Nizhnegorsky Raion) |
| 3. Ленинский р-н (Leninsky Raion) | 7. Джанкойский р-н (Dzhankoytsky Raion) |
| 4. Кировский р-н (Kirovsky Raion) | 8. Залив Сиваш (Sivash Lagoon) |

мест зимовок и остановок при миграции и гнездования. Такая же тенденция наблюдалась и в предыдущие годы [4].

В таблице 2 представлены данные о месте отбора проб патологического и биологического материала от диких околоводных птиц, количестве отобранных проб, а также видах и численности наблюдаемых птиц в ходе выездных экспедиций.

В патологическом материале (останки лебедя-шипунa), отобранном в декабре 2020 г. на береговой линии пресноводного озера вблизи с. Ермаково Джанкойского района (рис. 5a), был обнаружен геном вируса гриппа А подтипа H5.

На базе ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) был проведен генетический анализ и определен подтип нейраминидазы выявленного изолята вируса гриппа – N8. Сравнительный генетический анализ нуклеиновых последовательностей фрагмента гена H длиной 258 н. о. вируса гриппа птиц показал, что выявленный изолят принадлежит к азиатской генетической линии вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5 (клада 2.3.4.4), получившего эпизоотическое распространение в 2016–2020 гг. в странах Азии, Европы, Ближнего Востока и Африки. Согласно данным международной базы GenBank, наиболее генетически близким к выявленному изоляту является вирус A/duck/Egypt/SMG4/2019 (H5N8), выделенный на территории Египта в 2019 г. (уровень сходства 99,2–99,6%). Кроме того, данный изолят генетически близок к вирусам гриппа птиц подтипа H5N8, выявленным в 2020 г. в Омской, Курганской и Челябинской областях (уровень сходства 98,8–100,0%), а также к вирусам гриппа птиц подтипа H5N8, выделенным в 2016–2019 гг. в Воронежской, Ростовской, Московской областях и Республике Калмыкии (уровень сходства 97%). Сайт расщепления гемагглютинаина у выявленного вируса имеет структуру -REKRRKR-, характерную для высоковирулентных возбудителей гриппа птиц. Во всех остальных исследуемых образцах геном вируса гриппа птиц не обнаружен.

Также сотрудниками Россельхознадзора в лабораторно-диагностический центр филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» (Республика Крым) было доставлено 28 проб от птиц, отстрелянных в охотугодьях Ленинского района и районов г. Севастополя, 900 проб биоматериала, отобранного от домашней птицы на территории Белогорского, Первомайского, Нижнегорского, Симферопольского, Раздольненского, Кировского районов, городов Судак, Ялта, Феодосия и городских округов Ялта, Феодосия, Севастополь, а также 18 образцов продукции животного происхождения, реализуемых в г. Симферополе и Севастополе (табл. 3). Геном вируса гриппа птиц в данных пробах не обнаружен.

Всего за 2020 г. на грипп птиц методом ОТ-ПЦР-РВ было исследовано 1000 проб патологического и биологического материала, из них 8,2% составили образцы, полученные от дикой птицы, 90% – от домашней птицы, содержащейся в личных подсобных хозяйствах граждан, и 1,8% – пробы продукции животного происхождения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При проведении эпизоотологического мониторинга гриппа птиц на территории Республики Крым в 2019–2020 гг. было обследовано 9 районов



Рис. 5. Останки лебедя-шипунa (a) и сокола-балобана (b)

Fig. 5. Remains of a mute swan (a) and a saker falcon (b)

Таблица 2

Численность и вид диких околоводных птиц, количество отобранных в 2020 г. проб

Table 2

Number and species of semiaquatic wild birds, number of samples in 2020

Дата отбора проб	Вид птиц, наблюдаемый в регионе	Количество особей	Количество отобранных проб
Фронтонное водохранилище, Ленинский район			
04.02.2020	Серый гусь (<i>Anser anser</i>)	24	27
	Белолобый гусь (<i>Anser albifrons</i>)	20	
	Черношейные поганки (<i>Podiceps nigricollis</i>)	200	
	Баклан большой (<i>Phalacrocorax carbo</i>)	70	
	Сокол-балобан (<i>Falco cherrug</i>)	1	
Оз. Кучук-Аджиголь, городской округ Феодосия			
03.11.2020	Лебедь-шипун (<i>Cygnus olor</i>)	60	21
	Лысуха (<i>Fulica atra</i>)	400	
	Большая выпь (<i>Botaurus stellaris</i>)	3	
	Цапля серая (<i>Ardea cinerea</i>), цапля большая белая (<i>Ardea alba</i>)	25	
	Красноголовый нырок (<i>Aythya ferina</i>)	200	
	Чернет морская (<i>Aythya marila</i>)	15	
	Чернет хохлатая (<i>Aythya fuligula</i>)	20	
	Утка широконоска (<i>Spatula clypeata</i>)	90	
	Чирок-свистунок (<i>Anas crecca</i>)	120	
	Серая утка (<i>Mareca strepera</i>)	38	
	Кряква (<i>Anas platyrhynchos</i>)	70	
Побережье пресноводного озера вблизи с. Ермаково, Джанкойский район			
18.12.2020	Лебедь-шипун (<i>Cygnus olor</i>)	18	6
	Кряква (<i>Anas platyrhynchos</i>)	25	
	Лысуха (<i>Fulica atra</i>)	300	
Всего			54

Таблица 3

Количество и место отбора проб биологического материала от домашней птицы, патологического материала от дикой птицы и образцов продукции животного происхождения в 2020 г.

Table 3

Number and location of biological material samples taken from poultry, pathological material samples taken from wild birds and animal product samples in 2020

Наименование материала	Количество проб	Место отбора
Биологический материал (помет кур)	50	Городской округ Ялта, Белогорский район
Биологический материал (помет кур)	50	Первомайский район
Биологический материал (помет кур)	200	Нижегородский район
Биологический материал (помет кур)	25	Симферопольский район
Биологический материал (помет кур)	100	Раздольненский район
Биологический материал (помет кур)	150	г. Судак, г. Феодосия, городской округ Феодосия
Биологический материал (помет кур)	100	Кировский район
Биологический материал (помет кур)	100	Городской округ Алушта
Биологический материал (смывы из клоаки) от домашней птицы	50	Городской округ Евпатория
Биологический материал (помет кур)	75	Районы г. Севастополя
Патологический материал (тушки от дикой птицы)	14	Охотугодья г. Севастополя
Патологический материал (тушки от дикой птицы)	9	Охотугодья г. Севастополя и Ленинского района
Патологический материал (тушки от дикой птицы – дрофы <i>Otis tarda</i>)	5	Охотугодья Ленинского района
Мясо птицы мороженое (индейка) и субпродукты птицы мороженые (индейка)	12	г. Симферополь
Яйцо куриное (30 шт.)	6 объединенных проб	г. Севастополь
Биологический материал (помет от диких околоводных птиц)	36	Оз. Кучук-Аджиголь, городской округ Феодосия
Останки дикой птицы (сокол-балобан)	1	
Биологический материал (помет от диких околоводных птиц)	11	Фронтонное водохранилище, Ленинский район
Останки дикой птицы (лебедь-шипун)	1	Береговая линия пресноводного озера вблизи с. Ермаково, Джанкойский район
Биологический материал (помет от диких околоводных птиц)	5	
Всего	1000	

и отобрано 2000 образцов патологического и биологического материала, из них от дикой околоводной птицы – 215 проб (10,75%), от птиц, отстрелянных в охотугодьях, – 319 проб (15,95%), от домашней птицы – 1448 проб (72,4%), продукты животного происхождения – 18 образцов (0,9%).

Геном вируса гриппа птиц был обнаружен в двух пробах (0,1%), отобранных от дикой птицы: в ноябре 2019 г. на побережье оз. Кучук-Аджиголь городского округа Феодосия (грипп птиц А подтип H9) и в 2020 г. на побережье озера вблизи с. Ермаково Джанкойского района (грипп птиц А подтип H5). Данный факт служит очередным подтверждением того, что основной угрозой заноса гриппа птиц на территорию Крыма является дикая перелетная птица.

Следовательно, своевременный анализ результатов мониторинговых исследований позволит отслеживать эпизоотическую ситуацию по гриппу птиц и в случае возникновения угрозы – вовремя провести мероприятия по недопущению распространения вируса гриппа

птиц, купировать очаги инфекций и осуществлять мероприятия, направленные в первую очередь на разрыв звеньев эпизоотической цепи.

Перспективой дальнейших исследований является проведение последовательного и детального эпизоотологического мониторинга гриппа птиц на полуострове с расширением зоны охвата исследуемых районов (охотугодья, заповедные зоны).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Макаров В. В., Грубый В. А., Груздев К. Н., Сухарев О. И. Список МЭБ и трансграничные инфекции животных. Владимир: ВИТ-принт; 2012. 162 с. eLIBRARY ID: 19518209.
- Волков М. С., Варкентин А. В., Ирза В. Н., Чвала И. А., Меньшикова А. Э., Андриясов А. В. и др. Изучение циркуляции вируса гриппа птиц на территории убсунурского миграционного очага Республики Тыва. *Ветеринария сегодня*. 2016; (4): 8–18. Режим доступа: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/267>.
- Марченко В. Ю., Суслопаров И. М., Игнатьев В. Э., Гаврилова Е. В., Максютин Р. А., Рыжиков А. Б. Обзор ситуации по высокопатогенному вирусу гриппа птиц субтипа H5 в России в 2016–2017 гг. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 1: 30–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-30-35.

4. Джавадов Э. Д., Придыбайло Н. Д. Актуальные проблемы эпизоотологии, диагностики и профилактики гриппа птиц. *Групп А птиц: проблемы и пути их решения: материалы научной сессии СЗНМЦ Россельхозакадемии и ВНИВИ птицеводства (29–30 мая 2006 г.)*. СПб., Ломоносов: ВВМ; 2006; 23–42. eLIBRARY ID: 29666969.
5. Андриясов А. В., Манин Т. Б., Пчелкина И. П., Щербакова Л. О., Колосов С. Н., Дрыгин В. В. Идентификация и генетический анализ изолятов вируса гриппа птиц, выделенных на территории Южного федерального округа в 2006 году. *Ветеринарная медицина*. 2006; 87: 24–31.
6. Alexander D. J. An overview of the epidemiology of avian influenza. *Vaccine*. 2007; 25 (30): 5637–5644. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.10.051.
7. Lewis N. S., Banyard A. C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., et al. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. *Emerg. Microbes Infect.* 2021; 10 (1): 148–151. DOI: 10.1080/22221751.2021.1872355.
8. Lee D. H., Sharshov K., Wayne D. E., Kurskaya O., Sobolev I., Kabilov M., et al. Novel reassortant clade 2.3.4.4 avian influenza A(H5N8) virus in wild aquatic birds, Russia, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23 (2): 359–360. DOI: 10.3201/eid2302.161252.
9. Волков М. С., Ирза В. Н., Варкентин А. В., Роголев С. В., Андриясов А. В. Результаты научной экспедиции в природные биотопы Республики Тыва в 2019 году для проведения мониторинга инфекционных болезней в популяциях диких птиц. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2 (33): 83–88. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-83-88.
10. Воротилова Н. Г., Данильченко С. И., Ионкина И. Б., Гадзевич Д. В. Эпизоотологический мониторинг инфекционных болезней птиц в Республике Крым. *Известия сельскохозяйственной науки Тавриды*. 2015; 3 (166): 81–92. eLIBRARY ID: 26375169.
11. Гадзевич Д. В., Данильченко С. И., Пасунькина М. А., Ерофеев С. Г., Ирза В. Н., Волков М. С., Варкентин А. В. Эпизоотологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни на территории Республики Крым в 2017–2018 гг. *Ярочно-прикладные аспекты производства, переработки и ветеринарно-санитарного контроля сельскохозяйственной продукции: сборник научных трудов по материалам Национальной научно-практической конференции с международным участием (27–28 марта 2019 г.)*. Ярославль: ФГБОУ ВПО Ярославская ГСХА; 2019; 13–21. eLIBRARY ID: 42443880.
12. Джавадов Э. Д., Полежаев Ф. И., Григорашева И. Н., Придыбайло Н. Д., Авдосьева И. К. Грипп птиц. Стратегия противодействия. *Ветеринария*. 2006; 6: 3–6. eLIBRARY ID: 9211239.
13. Львов Д. К., Щелканов М. Ю., Дерябин П. Г., Гребенникова Т. В., Прилипов А. Г., Власов Н. А. и др. Изоляция штаммов вируса гриппа A/H5N1 от домашних и диких птиц в период эпизоотии в Западной Сибири (июль 2005 г.) и их депонирование в государственную коллекцию вирусов (08 августа 2005 г.). *Вопросы вирусологии*. 2006; 1 (51): 11–14. eLIBRARY ID: 9176306.
14. Львов Д. К., Щелканов М. Ю., Дерябин П. Г., Бурцева Е. И., Галкина И. В., Гребенникова Т. В. и др. Эпизоотия среди лебедей-шипунов (*Cygnus olor*) в нижней дельте Волги (ноябрь 2005 г.), вызванная высокопатогенным вирусом гриппа A/H5N1. *Вопросы вирусологии*. 2006; 3 (51): 10–16. eLIBRARY ID: 9195323.
15. Львов Д. К., Щелканов М. Ю., Дерябин П. Г., Федякина И. Т., Бурцева Е. И., Прилипов А. Г. и др. Изоляция высокопатогенных (HPAI) штаммов вируса гриппа A/H5N1 от диких птиц в очаге эпизоотии на озере Убсу-Нур (июнь 2006 г.) и их депонирование в Государственную коллекцию вирусов РФ (3 июля 2006 г.). *Вопросы вирусологии*. 2006; 6 (51): 14–18. eLIBRARY ID: 9433412.
16. Avian Influenza. OIE. World Organisation for Animal Health. Режим доступа: <https://www.oie.int/en/disease/avian-influenza/>.
17. Поярков Н. Д., Кондратьев А. В., Литвин К. Е., Сыроечковский Е. Е., Коблик Е. А., Блохин Ю. Ю. и др. Полевой определитель гусеобразных птиц России. М.: Всероссийский научно-исследовательский ин-т охраны природы; 2011. 223 с. eLIBRARY ID: 19502413.
18. Ветеринарные правила лабораторной диагностики гриппа А птиц: утв. Приказом МСХ РФ от 03.04.2006 № 105. М.: Гарант; 2020. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/901976707>.
19. Ибрагимов А. А. Патологистологические изменения при респираторных инфекциях у птиц. *Ветеринария*. 2005; 4: 23–25. eLIBRARY ID: 16930332.
20. Ибрагимов А. А. Особенности течения, клиники и патоморфологии гриппа птиц. *Птицеводство*. 2006; 4: 42–44. eLIBRARY ID: 16770012.
21. Ибрагимов А. А. Патологоанатомические изменения при гриппе птиц. *Ветеринария*. 2006; 4: 26–27. eLIBRARY ID: 9187183.
22. Volkov M. S., Varkentin A. V., Irza V. N., Chvala I. A., Menshikova A. E., Andriyasov A. V., et al. Study of avian influenza virus circulation in Uvs-Nuur migration area in Republic of Tyva. *Veterinary Science Today*. 2016; (4): 8–18. Available at: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/267>. (in Russ.)
23. Marchenko V. Yu., Susloparov I. M., Ignat'ev V. E., Gavrilova E. V., Maksyutov R. A., Ryzhikov A. B. Overview of the situation on highly pathogenic avian influenza virus H5 in Russia in 2016–2017. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2018; 1: 30–35. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-1-30-35. (in Russ.)
24. Dzhabadov E. D., Pridybailo N. D. Aktual'nye problemy epizootologii, diagnostiki i profilaktiki grippa ptits = Topical issues of avian influenza epidemiology, diagnosis and prevention. *Gripp A ptits: problemy i puti ikh resheniya: materialy nauchnoi sessii SZNMTs Rossel'khozakademii i VNIIV pitsevodstva (29–30 maya 2006 g.) = Avian influenza A: challenges and ways of solution: Proceedings of the Scientific Session of North-Western Scientific and Methodological Centre of the Russian Agricultural Academy and All Russia Scientific Research Veterinary Institute for Poultry (May 29–30, 2006)*. Saint Petersburg, Lomonosov: VVM; 2006; 23–42. eLIBRARY ID: 29666969. (in Russ.)
25. Andriyasov A. V., Manin T. B., Pchelkina I. P., Shcherbakova L. O., Kolosov S. N., Drygin V. V. Identifikatsiya i geneticheskii analiz izolyatov virusa grippa ptits, vydelennykh na territorii Yuzhnogo Federal'nogo okruga v 2006 godu = Identification and genetic analysis of avian influenza virus isolates collected in the Southern Federal District in 2006. *Veterinary Medicine*. 2006; 87: 24–31. (in Russ.)
26. Alexander D. J. An overview of the epidemiology of avian influenza. *Vaccine*. 2007; 25 (30): 5637–5644. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.10.051.
27. Lewis N. S., Banyard A. C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., et al. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. *Emerg. Microbes Infect.* 2021; 10 (1): 148–151. DOI: 10.1080/22221751.2021.1872355.
28. Lee D. H., Sharshov K., Wayne D. E., Kurskaya O., Sobolev I., Kabilov M., et al. Novel reassortant clade 2.3.4.4 avian influenza A(H5N8) virus in wild aquatic birds, Russia, 2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2017; 23 (2): 359–360. DOI: 10.3201/eid2302.161252.
29. Volkov M. S., Irza V. N., Varkentin A. V., Rogolyov S. V., Andriyasov A. V. Results of scientific expedition to natural biotopes of the Republic of Tyva in 2019 with the purpose of infectious disease monitoring in wild bird populations. *Veterinary Science Today*. 2020; 2 (33): 83–88. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-83-88.
30. Vorotilova N. G., Danyilchenko S. I., Ionkina I. B., Gadzevich D. V. Epizootology monitoring of the infectious diseases of birds in the Republic of Crimea. *Transactions of Taurida Agricultural Science*. 2015; 3 (166): 81–92. eLIBRARY ID: 26375169. (in Russ.)
31. Gadzevich D. V., Danil'chenko S. I., Pasun'kina M. A., Erofeev S. G., Irza V. N., Volkov M. S., Varkentin A. V. Epizootologicheskii monitoring grippa ptits i n'yukasl'skoi bolezni na territorii Respubliki Krym v 2017–2018 gg. = Epidemiological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Republic of Crimea in 2017–2018. *Nauchno-prikladnye aspekty proizvodstva, pererabotki i veterinarno-sanitarnogo kontrolya sel'skokhozyaystvennoi produktii: sbornik nauchnykh trudov po materialam Natsional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (27–28 marta 2019 g.) = Scientific and Applied Aspects of Production, Processing and Veterinary and Sanitary Control of Agricultural Products: A Collection of Proceedings Based on Papers of the National Scientific and Practical Conference with International Participation (March 27–28, 2019)*. Yaroslavl: FGBOU VPO Yaroslavskaya GSKhA; 2019; 13–21. eLIBRARY ID: 42443880. (in Russ.)
32. Dzhabadov E. D., Polezhaev F. I., Grigorashева I. N., Pridybailo N. D., Avdos'eva I. K. Gripp ptits. Strategiya protivodeystviya = Avian influenza. Combat strategy. *Veterinariya*. 2006; 6: 3–6. eLIBRARY ID: 9211239. (in Russ.)
33. Lvov D. K., Shchelkanov M. Yu., Deryabin P. G., Grebennikova T. V., Prilipov A. G., Vlasov N. A., et al. Isolation of influenza A/H5N1 virus strains from poultry and wild birds in West Siberia during epizooty (July 2005) and their depositing to the state collection of viruses (August 8, 2005). *Problems of Virology*. 2006; 1 (51): 11–14. eLIBRARY ID: 9176306. (in Russ.)
34. Lvov D. K., Shchelkanov M. Yu., Deryabin P. G., Burtseva E. I., Gal'kina I. V., Grebennikova T. V., et al. Highly pathogenic influenza A/H5N1 virus-caused epizooty among mute swans (*Cygnus olor*) in the lower estuary of the Volga river (November 2005). *Problems of Virology*. 2006; 3 (51): 10–16. eLIBRARY ID: 9195323. (in Russ.)
35. Lvov D. K., Shchelkanov M. Yu., Deryabin P. G., Fedyakina I. T., Burtseva Ye. I., Prilipov A. G., et al. Isolation of highly pathogenic avian influenza (HPAI) A/H5N1 strains from wild birds in the epizootic outbreak on the Ubsu-Nur lake (June 2006) and their incorporation to the Russian Federation state collection of viruses (July 3, 2006). *Problems of Virology*. 2006; 6 (51): 14–18. eLIBRARY ID: 9433412. (in Russ.)
36. Avian Influenza. OIE. World Organisation for Animal Health. Available at: <https://www.oie.int/en/disease/avian-influenza/>.
37. Poyarkov N. D., Kondrat'ev A. V., Litvin K. E., Syroechkovskii E. E., Koblik E. A., Blokhin Yu. Yu., et al. Polevoi opredelitel' guseobraznykh

REFERENCES

1. Makarov V. V., Grubiy V. A., Gruzdev K. N., Sukharev O. I. Spisok MEB i transgraniichnye infektsii zhivotnykh = OIE List and Transboundary Animal Diseases. Vladimir: VIT-print; 2012. 162 p. eLIBRARY ID: 19518209. (in Russ.)

ptits Rossii = Russia's Anseriformes field indicator. Moscow: Vserossiiskii nauchno-issledovatel'skii institut okhrany prirody; 2011. 223 p. eLIBRARY ID: 19502413. (in Russ.)

18. Veterinarnye pravila laboratornoi diagnostiki grippa A ptits = Veterinary rules for avian influenza A laboratory diagnosis: approved by Order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation No. 105 of April 3, 2006. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/901976707>. (in Russ.)

19. Ibragimov A. A. Histological changes during respiratory infections in poultry. *Veterinariya*. 2005; 4: 23–25. eLIBRARY ID: 16930332. (in Russ.)

20. Ibragimov A. A. Osobennosti techeniya, kliniki i patomorfologii grippa ptits = Avian influenza features, clinical signs and pathomorphology. *Ptitsevodstvo*. 2006; 4: 42–44. eLIBRARY ID: 16770012. (in Russ.)

21. Ibragimov A. A. Pathologicoanatomic changes in case of influenza of birds. *Veterinariya*. 2006; 4: 26–27. eLIBRARY ID: 9187183. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 08.09.2021

Поступила после рецензирования / Revised 06.10.2021

Принята к публикации / Accepted 22.10.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гадзевич Данил Викторович, ведущий ветеринарный врач лаборатории молекулярной диагностики лабораторно-диагностического центра Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия.

Данильченко Сергей Иванович, кандидат ветеринарных наук, руководитель лабораторно-диагностического центра Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия.

Воротилова Надежда Григорьевна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией молекулярной диагностики лабораторно-диагностического центра Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия.

Пасункина Мария Александровна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией диагностики болезней животных лабораторно-диагностического центра Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия.

Уппе Виктория Александровна, аспирант, лаборант-исследователь лаборатории молекулярной диагностики лабораторно-диагностического центра Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия.

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

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

Зиняков Николай Геннадьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Danil V. Gadzevich, Leading Veterinarian, Laboratory for Molecular Diagnostics, Laboratory and Diagnosis Centre, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol, Russia.

Sergey I. Danylchenko, Candidate of Science (Veterinary Medicine), PhD, Head of Laboratory and Diagnosis Centre, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol, Russia.

Nadezhda G. Vorotilova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Molecular Diagnostics, Laboratory and Diagnosis Centre, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol, Russia.

Maria A. Pasunkina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Animal Disease Diagnostics, Laboratory and Diagnosis Centre, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol, Russia.

Viktoriya A. Uppe, Post-Graduate, Laboratory Research Technician, Laboratory for Molecular Diagnostics, Laboratory and Diagnosis Centre, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol, Russia.

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

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

Nikolay G. Zinyakov, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.



Сравнительная эффективность вакцин в жидкой и лиофилизированной формах при оральной вакцинации собак против бешенства

З. Д. Ершебулов¹, А. Т. Жунушов², Ж. Т. Аманова³

^{1,3} РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК (РГП «НИИПБ»), пгт Гвардейский, Казахстан

² Институт биотехнологии НАН КР, г. Бишкек, Киргизия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-8165-8298>, e-mail: ershebulov@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-2044-7849>, e-mail: junushov@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-3987-6814>, e-mail: amanova-janka@mail.ru

РЕЗЮМЕ

В настоящее время основной мерой борьбы с бешенством является вакцинопрофилактика домашних и диких животных, для этого используют инактивированные и живые препараты. Вакцины для оральной иммунизации диких плотоядных животных содержат живые аттенуированные вирусы бешенства, которые в жидком или лиофилизированном виде помещают внутрь съедобной приманки. В связи с отсутствием однозначных данных о преимуществах жидкого и лиофилизированного перорального препарата при формировании у животных поствакцинального иммунитета против бешенства было проведено сравнительное изучение эффективности данных антирабических вакцин, изготовленных из штамма VRC-R22 вируса бешенства. Иммуногенную эффективность изучали на беспородных, серонегативных к антигенам вируса бешенства собаках в возрасте от 3 мес. и старше. Животных случайным образом разделили на три группы: две опытные и контрольную. В первой группе собакам скармливали брикет-приманку, содержащую блистер с жидкой вирусосодержащей суспензией, во второй группе – брикет-приманку, внутрь которой помещена желатиновая капсула с лиофилизированной суспензией вируса. Через 21 сут после иммунизации у всех животных отбирали пробы крови, полученные из них сыворотки исследовали в реакции нейтрализации для определения титров вируснейтрализующих антител. Напряженность антирабического иммунитета у вакцинированных собак оценивали путем интрацеребрального заражения животных вирулентным вирусом бешенства штамма CVS. В результате проведенного исследования установлено, что в обеих группах иммунизированных собак титры вируснейтрализующих антител были примерно одинаковыми и находились в диапазоне от 3,25 до 4,33 log₂. Выработанные у иммунизированных собак вируснейтрализующие антитела обеспечивали надежную защиту от вирулентного вируса штамма CVS. Все животные контрольной группы после заражения погибли с клиническими признаками паралитической формы бешенства. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности обеих форм оральных вакцин против бешенства.

Ключевые слова: вирус бешенства, пероральная вакцина, жидкая вакцина, лиофилизированная вакцина, антитела, иммунитет

Благодарности: Работа была выполнена в рамках научного проекта на тему «Мониторинг и изучение дикой фауны в эпидемически актуальных регионах на носительство опасных патогенов и разработка комплексных профилактических мероприятий для обеспечения биологической безопасности Республики Казахстан» (номер государственной регистрации 0153/ПЦФ-14-0Т) по целевому финансированию при поддержке Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, а также на тему «Коммерциализация вакцины инактивированной против бешенства животных» на 2018–2020 гг. по программе «Ветеринарная безопасность территории Республики Казахстан: эпизоотологический мониторинг, испытание, внедрение и коммерциализация средств специфической профилактики и диагностики особо опасных инфекционных заболеваний» (номер государственной регистрации 0.0878 ИРК BR06249226). Авторы выражают признательность сотруднику РГП «НИИПБ» Д. С. Таранову за помощь при выполнении опытно-экспериментальных исследований.

Для цитирования: Ершебулов З. Д., Жунушов А. Т., Аманова Ж. Т. Сравнительная эффективность вакцин в жидкой и лиофилизированной формах при оральной вакцинации собак против бешенства. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 317–322. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-317-322.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Ершебулов Закир Джапарович, аспирант, руководитель управления качества РГП «НИИПБ», 080409, Республика Казахстан, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б. Момышулы, 15, e-mail: ershebulov@mail.ru.

Comparative effectiveness of liquid and freeze-dried vaccines for oral vaccination of dogs against rabies

Z. D. Yershebulov¹, A. T. Zhunushov², Zh. T. Amanova³

^{1,3} RSE “Research Institute for Biological Safety Problems” SC MES RK (RSE “RIBSP”), Gvardeyskiy, Kazakhstan

² Institute of Biotechnology NAS KR, Bishkek, Kyrgyzstan

¹ <https://orcid.org/0000-0002-8165-8298>, e-mail: ershebulov@mail.ru² <https://orcid.org/0000-0003-2044-7849>, e-mail: junushov@mail.ru³ <https://orcid.org/0000-0002-3987-6814>, e-mail: amanova-janka@mail.ru

SUMMARY

Currently, vaccination is the main measure to combat rabies in domestic and wild animals. Inactivated and live vaccines are used for this purpose. Oral vaccines for wild carnivores contain live attenuated rabies viruses in liquid or freeze-dried form, which are packaged inside edible baits. Since there are no consistent data showing advantages of liquid and freeze-dried oral products for vaccine-induced immunity against rabies in animals, we compared effectiveness of these rabies vaccines produced from rabies virus strain VRC-R22. Immunogenicity was tested in mongrel dogs aged 3 months and older that are seronegative for rabies virus antigens. The animals were randomly divided into three groups: two experimental and one control group. Group One was fed a block-type bait containing a blister with liquid virus-containing suspension, Group Two was given a block-type bait containing a gelatin capsule with freeze-dried virus suspension. On Day 21 post vaccination, blood samples were taken from all the animals and the obtained sera were examined in virus neutralization test to measure virus neutralizing antibodies titers. The level of the immune response against rabies in the vaccinated dogs was assessed by intracerebral infection of animals with virulent rabies virus strain CVS. The carried out research demonstrated that both groups of the vaccinated dogs had approximately the same titers of virus neutralizing antibodies that ranged from 3.25 to 4.33 log₂. The virus neutralizing antibodies observed in the immunized dogs ensured good protection from virulent CVS strain. All animals of the control group died after infection demonstrating clinical signs of paralytic rabies. The results obtained show that both forms of the oral rabies vaccines are effective.

Keywords: rabies virus, oral vaccine, liquid vaccine, freeze-dried vaccine, antibodies, immunity

Acknowledgements: The work was carried out within the scientific project devoted to the topic "Monitoring and observation of wild fauna in epidemiologically relevant regions for carriage of dangerous pathogens and development of comprehensive preventive measures to ensure biological safety of the Republic of Kazakhstan" (State Registration Number 0153/PCF-14-OT) (based on targeted funding with the support of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan), and devoted to the topic "Commercialization of inactivated vaccine against rabies in animals" for 2018–2020 under the program "Veterinary safety of the Republic of Kazakhstan: epidemiological monitoring, testing, introduction and commercialization of means of specific prophylaxis and diagnosis for highly dangerous infectious diseases" (State Registration Number 0.0878 IRK BR06249226). The authors express their gratitude to D. S. Taranov, the employee of the RSE "RIBSP", for his help in carrying out experiments.

For citation: Yershebulov Z. D., Zhunushov A. T., Amanova Zh. T. Comparative effectiveness of liquid and freeze-dried vaccines for oral vaccination of dogs against rabies. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 317–322. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-317-322.

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

For correspondence: Zakir D. Yershebulov, Post-Graduate Student, Head of Quality Management, RSE "RIBSP", 080409, Republic of Kazakhstan, Zhambyl Region, Korday District, Gvardeiskiy, ul. Momysheuly, 15, e-mail: ershebulov@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Бешенство – это вирусное заболевание, поражающее центральную нервную систему млекопитающих, в том числе человека [1]. В настоящее время эта болезнь является эндемичной более чем в 150 странах мира. Несмотря на то что бешенство предотвратимо, по оценкам Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), ежегодно в мире от него погибает 59 тыс. человек, преимущественно в самых бедных и наиболее уязвимых общинах. Порядка 40% жертв составляют дети в возрасте до 15 лет, живущие в Азии и Африке [2].

До недавнего времени глобальные ответные меры против бешенства отличались раздробленностью и отсутствием координации. Сейчас под руководством ВОЗ осуществляется коллективная инициатива «Объединимся для борьбы с бешенством», целью которой является достижение к 2030 г. нулевого числа случаев смерти людей от бешенства, передаваемого собаками [3]. На заседании Совета глав государств СНГ в 2018 г. был принят Комплекс совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 г. [4].

Тактика борьбы с бешенством среди диких животных резко изменилась за последние несколько десяти-

летий, отчасти благодаря новым научным достижениям. Исторически меры борьбы с бешенством в основном заключались в уничтожении целевых видов животных [5]. Однако научные достижения позволили разработать метод оральной иммунизации диких животных путем включения антирабической вакцины в съедобные приманки для плотоядных.

На сегодняшний день существуют различные виды и формы приманок, большинство из которых имеют примерно одинаковую компоновку и состоят из блистера с вакциной, помещенного внутрь вкусовой приманки, с небольшими вариациями в размерах, составах приманки и типах блистеров [6, 7].

Большая часть вирусов, используемых при изготовлении живых оральных антирабических вакцин, произошла от аттенуированного штамма вируса Evelyn-Rokitnicki-Abelseth (ERA), который был получен из оригинального штамма вируса бешенства Street-Alabama-Dufferin (SAD). Родительский вирус штамма SAD был выделен из слюнных желез больной бешенством собаки в США в 1935 г., а затем аттенуирован методом серийных пассажей на мышах, в куриных эмбрионах и различных клеточных линиях и переименован в ERA [8]. Модифицированный вакцинный

штамм SAD Bern был получен в результате серийных пассажей штамма ERA в культурах клеток, его использовали в первых испытаниях оральной вакцины против бешенства в Швейцарии [9].

Успешность борьбы с бешенством путем оральной иммунизации диких животных была продемонстрирована в ряде европейских стран, таких как Эстония, Франция, Италия и Швейцария. Следует отметить, что эти страны были объявлены свободными от бешенства только после проведения в течение нескольких лет кампаний по оральной вакцинации с использованием приманок, содержащих вакцинный штамм вируса SAG2 (Франция также использовала рекомбинантную вакцину V-RG) [10–12].

Штамм вируса бешенства SAG2 (SAD Avirulent Gif) – это модифицированный живой вирус, полученный из SAD Bern в 1990 г. в результате двух последовательных мутаций [13].

В Канаде и США было продемонстрировано успешное применение рекомбинантных антирабических вакцин на основе вирусов осповакцины и аденовируса человека 5-го серотипа RABORAL V-RG® (Boehringer Ingelheim Animal Health Inc., США) и ONRAB® (Artemis Technologies Inc., Канада) для иммунизации диких животных [14–17]. Данные препараты были получены на основе вирусного вектора, который был создан в 1984 г. и представлял собой рекомбинантный вирус осповакцины V-RG, несущий ген G-белка вируса бешенства штамма ERA [11, 12, 18].

Существуют и лиофилизированные оральные антирабические вакцины. Одна из них разработана учеными из ВНИИВВиМ (Россия)¹, препарат содержит фиксированный штамм вируса бешенства TC-80, полученный в 1980 г. Г. А. Сафоновым с соавт. и депонированный в ВГНКИ 17 февраля 1988 г. [19]. Еще одним средством специфической профилактики, нашедшим применение на практике, является вакцина RABIGEN® SAG2, разработанная учеными лаборатории Virbac (Франция). Данный препарат представляет собой живую модифицированную аттенуированную вакцину против бешенства, изготовленную на основе рекомбинантного вируса штамма SAG2, полученного из штамма SAD Bern в ходе двухэтапного процесса аминокислотной мутации с использованием нейтрализующих моноклональных антител. Эффективность RABIGEN® SAG2 была продемонстрирована в соответствии с требованиями Евросоюза для красной лисы и енотовидной собаки на территории Эстонии, Франции, Италии и Швейцарии [10].

Несмотря на экспериментальное подтверждение эффективности пероральной иммунизации диких плотоядных животных, понимание механизмов проникновения вакцинных вирусов в клетку хозяина и их репликации имеет решающее значение для разработки и усовершенствования вакцин.

Во многих странах при проведении мероприятий по профилактике бешенства в полевых условиях используются блистеры с вакциной, заполненные вирус-содержащей суспензией, приготовленной из разных

штаммов возбудителя заболевания. Однако рядом авторов отмечено, что распространение брикет-вакцин в холодную погоду может привести к замораживанию основного компонента – иммуногена, тем самым при поедании приманки животным вакцина попадает не на слизистую оболочку ротовой полости, а в желудок, что снижает эффективность вакцинации [20]. Возможным решением данной проблемы является применение вакцины с кислотозащитным покрытием, защищающим вирус от инактивирующего воздействия желудочного сока, или лиофилизированной пероральной вакцины, которая устойчива к негативному воздействию низких температур и не требует пережевывания для воздействия вакцинного вируса на слизистую оболочку ротовой полости [21, 22].

Цель исследования – провести сравнительное изучение иммуногенной эффективности антирабических вакцин в жидкой и лиофилизированной формах, изготовленных из штамма VRC-RZ2 вируса бешенства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вакцинный штамм вируса. Штамм VRC-RZ2 вируса-фикс бешенства животных был получен из органо-тканевого (мозг щенка) рабического изолята и депонирован в коллекцию микроорганизмов РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» (РГП «НИИПББ», Казахстан) с регистрационным номером П-7-04/Д. Данный штамм рекомендован для изготовления вакцины против бешенства, предназначенной для оральной иммунизации животных (патент РК № 17453²). Титр вакцинного штамма составляет 6,0–6,5 Ig МЛД₅₀/0,03 см³.

Вакцина. Для проведения исследований использованы пероральные вакцины, изготовленные из штамма VRC-RZ2, в двух формах:

- жидкой – препарат массой 25–30 г содержит 10 см³ суспензии вируса бешенства в блистерной упаковке, заключенной в брикет-приманку. Титр вируса в одной дозе вакцины составляет 10^{6,75} ТЦД₅₀/см³.

- лиофилизированной – препарат массой 25–30 г содержит 10 см³ лиофилизированной суспензии вируса бешенства со стабилизирующим и кислотоустойчивым полимером в желатиновой капсуле, заключенной в брикет-приманку. Титр вируса в одной дозе вакцины составляет 10⁷ ТЦД₅₀/см³.

Вирус для контрольного заражения. В эксперименте использовали референс-штамм CVS вируса бешенства, который поддерживается и сохраняется в коллекции микроорганизмов РГП «НИИПББ» (Казахстан). Инфекционная активность вируса составляет 4,5–5,0 МЛД₅₀.

Животные и подготовка их к опыту. Объектом исследования послужили 15 беспородных собак в возрасте от 3 мес. и старше.

До начала эксперимента опытных животных идентифицировали и выдерживали на карантине в течение 14 сут с проведением дегельминтизации, клинического осмотра и анализа сыворотки крови на наличие специфических антител к вирусу бешенства в реакции нейтрализации (РН) [23]. В опыте использовали собак,

¹ Хрипунов Е. М., Исакова Н. Б., Евсеева С. Д., Вишняков И. Ф., Недосеков В. В., Жестерев В. И. и др. Вирусвакцина против бешенства для пероральной иммунизации плотоядных. Патент № 2157700 Российская Федерация, МПК А61К 39/205(2006.01), С12N 7/00(2006.01). ВНИИВВиМ. Заявл. 25.01.1999. Оpubл. 20.10.2000.

² Русанова А. М., Жилин Е. С., Троицкий Е. Н., Мамадалиев С. М., Баракбаев К. Б., Демченко А.Г. Штамм «VRC-RZ2» вируса-фикс бешенства животных для приготовления профилактических и диагностических препаратов. Патент № 17453 Республика Казахстан, МПК С12N 7/00, С12R 1/93, А61К 39/205. Заявл. 10.12.2004. Оpubл. 15.12.2009. Бюл. № 12.

у которых не выявлены специфические антитела к вирусу бешенства и без истории вакцинации против данной болезни.

Эксперименты на животных проводили в соответствии с национальными и международными законами и руководствами по обращению с животными. Протокол был утвержден Комитетом по этике экспериментов на животных РГП «НИИПББ» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (номер разрешения: 0701/20).

Исследования на животных. По истечении срока карантина собак выдерживали в течение суток без корма, затем их случайным образом разделили на три группы по 5 особей в каждой. Животным первой группы скормили брикет-приманку с жидким препаратом в блистере, собакам второй группы – брикет-приманку с лиофилизированной вакциной в желатиновой капсуле. Третью группу животных использовали в качестве контроля. Через 21 сут после вакцинации у всех собак

отбирали пробы крови, полученные сыворотки исследовали в РН [23] для определения титров вируснейтрализующих антител (ВНА).

Контрольное заражение. С целью оценки антирабического иммунитета через 21 сут после вакцинации животных всех групп заражали интрацеребрально штаммом CVS вирулентного вируса бешенства в дозе 100 и 1000 МЛД₅₀ и проводили клиническое наблюдение в течение 21 сут.

Реакция диффузионной преципитации (РДП). Постановку РДП проводили согласно ГОСТ 26075-2013³.

Статистическая обработка данных. Статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism версии 8.0.1. Результаты серологического теста после вакцинации обеими вакцинами, а также разницу между группами после контрольного заражения анализировали с помощью двухстороннего теста ANOVAs. Значение $P \leq 0,05$ считалось статистически значимым. Разницу в эффективности вакцинации между группами определяли с помощью одностороннего точного критерия Фишера для двух пропорций при уровне значимости Альфа < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе наблюдения за привитыми животными установлено, что собаки в течение 21 сут после иммунизации оставались здоровыми, каких-либо изменений в поведении и клинических симптомов бешенства не регистрировали, что указывает на безопасность используемых в эксперименте пероральных вакцин.

Поствакцинальный иммунитет оценивали по уровню антирабических ВНА в организме вакцинированных животных. Результаты проведенных исследований представлены на рисунке.

Установлено, что у собак первой группы, вакцинированных жидкой формой препарата, регистрировали ВНА в титрах от 3,33 до 4,33 log₂. Во второй группе животных, иммунизированных лиофилизатом вирусосодержащей суспензии, титры ВНА находились в диапазоне от 3,25 до 4,33 log₂. Несмотря на разные использованные в эксперименте формы пероральной вакцины, максимальный уровень ВНА в обеих группах привитых животных составил 4,33 log₂, при этом между титрами ВНА в первой и второй группах собак достоверной разницы не отмечено ($P > 0,05$).

Показано, что выработанные ВНА у собак обеих групп, иммунизированных разными формами пероральной вакцины, обеспечивали защиту от заражения вирулентным вирусом бешенства штамма CVS. Результаты исследований представлены в таблице.

После интрацеребрального заражения все животные первой группы оставались клинически здоровыми в течение 21 сут, независимо от дозы заражения. Во второй группе регистрировали гибель одной собаки (№ 2.3) на 3-и сут после заражения, остальные животные оставались клинически здоровыми в течение всего срока наблюдения, независимо от дозы заражения. В пробах мозга павшей собаки, исследованных в РДП, специфический антиген вируса бешенства не обнаружен. Все животные контрольной группы погибли в период от 5-х до 8-х сут с клиническими признаками

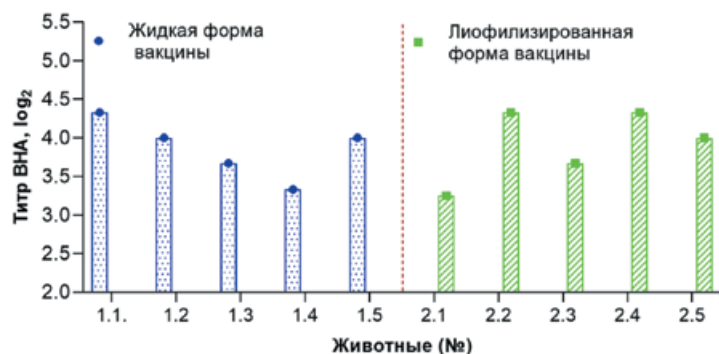


Рис. Эффективность оральной иммунизации собак жидкой и лиофилизированной вакцинами

Fig. Effectiveness of oral vaccination of dogs with liquid and freeze-dried vaccines

Таблица

Результаты контрольного заражения вакцинированных собак вирулентным вирусом бешенства штамма CVS

Table

Challenge of vaccinated dogs with virulent CVS strain of rabies virus

Группа животных	Номер животного	Доза заражения, МЛД ₅₀	Результат
первая опытная	1.1	100	—
	1.2	100	—
	1.3	100	—
	1.4	1000	—
	1.5	1000	—
вторая опытная	2.1	100	—
	2.2	100	—
	2.3	100	+
	2.4	1000	—
	2.5	1000	—

«+» — животное заболело (the animal is affected);

«—» — животное не заболело (the animal is not affected).

³ ГОСТ 26075-2013. Животные. Методы лабораторной диагностики бешенства. М.: Стандартинформ; 2014. 10 с. Режим доступа: <https://base.garant.ru/70995746>.

паралитической формы бешенства. Специфичность заболевания и гибели собак подтверждены в РДП.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют об эффективности обеих форм оральных вакцин против бешенства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что обе изучаемые антирабические вакцины, изготовленные на основе штамма VRC-RZ2 вируса бешенства, при оральной иммунизации собак вызывают образование ВНА, обеспечивающих 100%-ю защиту от интрацеребрального заражения вирулентным штаммом CVS вируса бешенства. Ввиду того, что лиофилизированная пероральная вакцина более устойчива к воздействию низких температур, ее можно применять в различных географических зонах Казахстана.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. OIE Rabies. Available at: <https://www.oie.int/en/disease/rabies>.
2. ВОЗ. Бешенство. Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/rabies> (дата обращения: 10.06.2021).
3. WHO Expert Consultation on Rabies: Third Report. *WHO Technical Report Series, No. 1012*. Geneva; 2018. 183 p. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272364>.
4. Исполнительный комитет Содружества Независимых Государств. Итоги 86-го заседания Экономического совета СНГ (30 июня 2020 г.). Режим доступа: https://cis.minsk.by/news/15259/itogi_86-go_zasedaniya_ekonomicheskogo_soveta_sng_%2830-ijunya_2020-goda%29 (дата обращения: 10.06.2021).
5. Rosatte R. Evolution of wildlife rabies control tactics. *Adv. Virus. Res.* 2011; 79: 397–419. DOI: 10.1016/B978-0-12-387040-7.00019-6.
6. Груздев К. Н., Метлин А. Е. Бешенство животных. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2019. 394 с. eLIBRARY ID: 41355659.
7. Linhart S. B., Wlodkowski J. C., Kavanaugh D. M., Motes-Kreimeyer L., Montoney A. J., Chipman R. B., et al. A new flavor-coated sachet bait for delivering oral rabies vaccine to raccoons and coyotes. *J. Wildl. Dis.* 2002; 38 (2): 363–377. DOI: 10.7589/0090-3558-38.2.363.
8. Abelse M. K. An attenuated rabies vaccine for domestic animals produced in tissue culture. *Can. Vet. J.* 1964; 5 (11): 279–286. PMID: 17421745.
9. Steck F., Wandeler A., Bichsel P., Capt S., Häfliger U., Schneider L. Oral immunization of foxes against rabies. Laboratory and field studies. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1982; 5 (1–3): 165–171. DOI: 10.1016/0147-9571(82)90031-5.
10. Mähl P., Cliquet F., Guiot A. L., Niin E., Fournials E., Saint-Jean N. Twenty year experience of the oral rabies vaccine SAG2 in wildlife: a global review. *Vet. Res.* 2014; 45 (1):77. DOI: 10.1186/s13567-014-0077-8.
11. Kiény M. P., Lathe R., Drilien R., Spehner D., Skory S., Schmitt D., et al. Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia virus. *Nature.* 1984; 312 (5990): 163–166. DOI: 10.1038/312163a0. PMID: 6548799.
12. Wiktor T. J., Macfarlan R. I., Reagan K. J., Dietzschold B., Curtis P. J., Wunner W. H., et al. Protection from rabies by a vaccinia virus recombinant containing the rabies virus glycoprotein gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1984; 81 (22): 7194–7198. DOI: 10.1073/pnas.81.22.7194.
13. Lafay F., Bénéjean J., Tuffereau C., Flamand A., Coulon P. Vaccination against rabies: construction and characterization of SAG2, a double avirulent derivative of SAD Bern. *Vaccine.* 1994; 12 (4): 317–320. DOI: 10.1016/0264-410x(94)90095-7.
14. Amann R., Rohde J., Wulle U., Conlee D., Raue R., Martinon O., Rziha H. J. A new rabies vaccine based on a recombinant ORF virus (parapoxvirus) expressing the rabies virus glycoprotein. *J. Virol.* 2013; 87 (3): 1618–1630. DOI: 10.1128/JVI.02470-12.
15. Mainguy J., Rees E. E., Canac-Marquis P., Bélanger D., Fehlner-Gardiner C., Séguin G., et al. Oral rabies vaccination of raccoons and striped skunks with ONRAB® baits: multiple factors influence field immunogenicity. *J. Wildl. Dis.* 2012; 48 (4): 979–990. DOI: 10.7589/2011-12-316.
16. Maki J., Guiot A. L., Aubert M., Brochier B., Cliquet F., Hanlon C. A., et al. Oral vaccination of wildlife using a vaccinia-rabies-glycoprotein recombinant virus vaccine (RABORAL V-RG®): A global review. *Vet. Res.* 2017; 48 (1):57. DOI: 10.1186/s13567-017-0459-9.
17. Fehlner-Gardiner C., Rudd R., Donovan D., Slate D., Kempf L., Badcock J. Comparing ONRAB® and RABORAL V-RG® oral rabies vaccine field performance in raccoons and striped skunks, New Brunswick, Canada, and

Maine, USA. *J. Wildl. Dis.* 2012; 48 (1): 157–167. DOI: 10.7589/0090-3558-48.1.157.

18. Follmann E., Ritter D., Swor R., Dunbar M., Hueffer K. Preliminary evaluation of Raboral V-RG® oral rabies vaccine in Arctic foxes (*Vulpes lagopus*). *J. Wildl. Dis.* 2011; 47 (4): 1032–1035. DOI: 10.7589/0090-3558-47.4.1032.

19. Елаков А. Л. Меры борьбы с бешенством у безнадзорных и диких животных. *VetPharma.* 2013; 5 (6): 24–27. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_21020254_52439858.pdf.

20. Follmann E. H., Ritter D. G., Donald W. H. Oral vaccination of captive arctic foxes with lyophilized SAG2 rabies vaccine. *J. Wildl. Dis.* 2004; 40 (2): 328–334. DOI: 10.7589/0090-3558-40.2.328.

21. Follmann E. H., Ritter D. G., Hartbauer D. W. Safety of lyophilized SAG2 oral rabies vaccine in collared lemmings. *J. Wildl. Dis.* 2002; 38 (1): 216–218. DOI: 10.7589/0090-3558-38.1.216.

22. Hermann J. R., Fry A. M., Siev D., Slate D., Lewis C., Gatewood D. M. Stability of vaccinia-vectored recombinant oral rabies vaccine under field conditions: A 3-year study. *Can. J. Vet. Res.* 2011; 75 (4): 278–284. PMID: 22468025.

23. Rabies (infection with rabies virus and other lyssaviruses). In: *OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.1.17. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.17_RABIES.pdf.

REFERENCES

1. OIE Rabies. Available at: <https://www.oie.int/en/disease/rabies>.
2. WHO. Rabies. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/rabies> (date of access: 10.06.2021).
3. WHO Expert Consultation on Rabies: Third Report. *WHO Technical Report Series, No. 1012*. Geneva; 2018. 183 p. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272364>.
4. Ispolnitel'nyi komitet Sodruzhestva Nezavisimykh Gosudarstv. Itogi 86-go zasedaniya Ekonomicheskogo soveta SNG (30 iyunya 2020 g.) = Executive Committee of the Commonwealth of Independent States. Results of the 86th meeting of the CIS Economic Council (June 30, 2020). Available at: https://cis.minsk.by/news/15259/itogi_86-go_zasedaniya_ekonomicheskogo_soveta_sng_%2830-ijunya_2020-goda%29 (date of access: 10.06.2021). (in Russ.)
5. Rosatte R. Evolution of wildlife rabies control tactics. *Adv. Virus. Res.* 2011; 79: 397–419. DOI: 10.1016/B978-0-12-387040-7.00019-6.
6. Grudev K. N., Metlin A. E. Animal Rabies. Vladimir: FGBI "ARRIAH". 2019. 394 p. eLIBRARY ID: 41355659. (in Russ.)
7. Linhart S. B., Wlodkowski J. C., Kavanaugh D. M., Motes-Kreimeyer L., Montoney A. J., Chipman R. B., et al. A new flavor-coated sachet bait for delivering oral rabies vaccine to raccoons and coyotes. *J. Wildl. Dis.* 2002; 38 (2): 363–377. DOI: 10.7589/0090-3558-38.2.363.
8. Abelse M. K. An attenuated rabies vaccine for domestic animals produced in tissue culture. *Can. Vet. J.* 1964; 5 (11): 279–286. PMID: 17421745.
9. Steck F., Wandeler A., Bichsel P., Capt S., Häfliger U., Schneider L. Oral immunization of foxes against rabies. Laboratory and field studies. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 1982; 5 (1–3): 165–171. DOI: 10.1016/0147-9571(82)90031-5.
10. Mähl P., Cliquet F., Guiot A. L., Niin E., Fournials E., Saint-Jean N. Twenty year experience of the oral rabies vaccine SAG2 in wildlife: a global review. *Vet. Res.* 2014; 45 (1):77. DOI: 10.1186/s13567-014-0077-8.
11. Kiény M. P., Lathe R., Drilien R., Spehner D., Skory S., Schmitt D., et al. Expression of rabies virus glycoprotein from a recombinant vaccinia virus. *Nature.* 1984; 312 (5990): 163–166. DOI: 10.1038/312163a0. PMID: 6548799.
12. Wiktor T. J., Macfarlan R. I., Reagan K. J., Dietzschold B., Curtis P. J., Wunner W. H., et al. Protection from rabies by a vaccinia virus recombinant containing the rabies virus glycoprotein gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1984; 81 (22): 7194–7198. DOI: 10.1073/pnas.81.22.7194.
13. Lafay F., Bénéjean J., Tuffereau C., Flamand A., Coulon P. Vaccination against rabies: construction and characterization of SAG2, a double avirulent derivative of SAD Bern. *Vaccine.* 1994; 12 (4): 317–320. DOI: 10.1016/0264-410x(94)90095-7.
14. Amann R., Rohde J., Wulle U., Conlee D., Raue R., Martinon O., Rziha H. J. A new rabies vaccine based on a recombinant ORF virus (parapoxvirus) expressing the rabies virus glycoprotein. *J. Virol.* 2013; 87 (3): 1618–1630. DOI: 10.1128/JVI.02470-12.
15. Mainguy J., Rees E. E., Canac-Marquis P., Bélanger D., Fehlner-Gardiner C., Séguin G., et al. Oral rabies vaccination of raccoons and striped skunks with ONRAB® baits: multiple factors influence field immunogenicity. *J. Wildl. Dis.* 2012; 48 (4): 979–990. DOI: 10.7589/2011-12-316.
16. Maki J., Guiot A. L., Aubert M., Brochier B., Cliquet F., Hanlon C. A., et al. Oral vaccination of wildlife using a vaccinia-rabies-glycoprotein recombinant virus vaccine (RABORAL V-RG®): A global review. *Vet. Res.* 2017; 48 (1):57. DOI: 10.1186/s13567-017-0459-9.
17. Fehlner-Gardiner C., Rudd R., Donovan D., Slate D., Kempf L., Badcock J. Comparing ONRAB® and RABORAL V-RG® oral rabies vaccine field performance in raccoons and striped skunks, New Brunswick, Canada, and

17. Fehlner-Gardiner C., Rudd R., Donovan D., Slate D., Kempf L., Badcock J. Comparing ONRAB® and RABORAL V-RG® oral rabies vaccine field performance in raccoons and striped skunks, New Brunswick, Canada, and Maine, USA. *J. Wildl. Dis.* 2012; 48 (1): 157–167. DOI: 10.7589/0090-3558-48.1.157.

18. Follmann E., Ritter D., Swor R., Dunbar M., Hueffer K. Preliminary evaluation of Raboral V-RG® oral rabies vaccine in Arctic foxes (*Vulpes lagopus*). *J. Wildl. Dis.* 2011; 47 (4): 1032–1035. DOI: 10.7589/0090-3558-47.4.1032.

19. Elakov A. L. Measures of fight against rabies of neglected and wild animals. *VetPharma*. 2013; 5 (6): 24–27. eLIBRARY ID: 21020254. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_21020254_52439858.pdf. (in Russ.)

20. Follmann E. H., Ritter D. G., Donald W. H. Oral vaccination of captive arctic foxes with lyophilized SAG2 rabies vaccine. *J. Wildl. Dis.* 2004; 40 (2): 328–334. DOI: 10.7589/0090-3558-40.2.328.

21. Follmann E. H., Ritter D. G., Hartbauer D. W. Safety of lyophilized SAG2 oral rabies vaccine in collared lemmings. *J. Wildl. Dis.* 2002; 38 (1): 216–218. DOI: 10.7589/0090-3558-38.1.216.

22. Hermann J. R., Fry A. M., Siev D., Slate D., Lewis C., Gatewood D. M. Stability of vaccinia-vectored recombinant oral rabies vaccine under field conditions: A 3-year study. *Can. J. Vet. Res.* 2011; 75 (4): 278–284. PMID: 22468025.

23. Rabies (infection with rabies virus and other lyssaviruses). In: *OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.1.17. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.17_RABIES.pdf.

Поступила в редакцию / Received 11.06.2021

Поступила после рецензирования / Revised 22.07.2021

Принята к публикации / Accepted 29.09.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ершебулов Закир Джапарович, аспирант, руководитель управления качества РГП «НИИПББ», пгт Гвардейский, Казахстан.

Жунушов Асанкадыр Темирбекович, доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент НАН КР, директор Института биотехнологии НАН КР, г. Бишкек, Киргизия.

Аманова Жанат Темирбаевна, магистр биологических наук, старший научный сотрудник РГП «НИИПББ», пгт Гвардейский, Казахстан.

Zakir D. Yershebulov, Post-Graduate Student, Head of Quality Management, RSE “RIBSP”, Gvardeiskiy, Kazakhstan.

Asankadyr T. Zhunushov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Corresponding Member of the NAS, Director, Institute of Biotechnology NAS KR, Bishkek, Kyrgyzstan.

Zhanat T. Amanova, Master of Sciences (Biology), Senior Researcher, RSE “RIBSP”, Gvardeiskiy, Kazakhstan.

DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-323-328
УДК 57.085.23:57.082.26:578.821.4



Сравнительная характеристика репродукции вирусов рода *Leporipoxvirus* в перевиваемой культуре клеток

О. Г. Лаптева¹, С. Г. Юрков², И. П. Синдрякова³, А. В. Луницин⁴

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ), пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-4435-8368>, e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-6801-9424>, e-mail: patronn13@rambler.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-5947-9402>, e-mail: isindryakova@ficvim.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5043-446X>, e-mail: lunicy@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Изучение характера взаимодействия вируса с клеткой имеет как научное, так и практическое значение. Целью настоящих исследований явилась сравнительная оценка проявления ряда биологических свойств вирусов миксомы и фибромы Шоупа кроликов при репродукции в клональной перевиваемой линии клеток почки кролика RK-13/2-03. Показано, что развитие инфекции и длительность проявления цитопатического действия в культуре клеток RK-13/2-03 изучаемых вирусов различны. Видимые поражения клеточного монослоя при одинаковой множественности заражения и температуре культивирования для вируса миксомы наблюдали на 2-е сут, для вируса фибромы — на 3-и сут, максимальное поражение клеток с выраженной дегенерацией отмечали на 3-и и 6-е сут культивирования соответственно. Вирус миксомы накапливался в титре 6,25–6,50 lg TCID₅₀/0,2 см³, а вирус фибромы Шоупа — в титре 5,50–5,75 lg TCID₅₀/0,2 см³. Данную инфекционную активность регистрировали у вируса фибромы Шоупа на протяжении трех, а вируса миксомы — двадцати пассажных уровней. Молекулярно-генетический анализ подтвердил, что полученные культуральные материалы идентифицируются как вирусы миксомы кроликов и фибромы Шоупа. При определении антигенного родства было установлено, что антитела, полученные к вирусу миксомы, способны нейтрализовать и вирус фибромы Шоупа. Титр антител в реакции нейтрализации обоих вирусов был идентичен и составил 1:8. Установлен высокий уровень перmissивности культуры клеток RK-13/2-03 к вирусу фибромы Шоупа, изолированному от больного кролика и не являющемуся аттенуированным вариантом вируса.

Ключевые слова: перевиваемая культура клеток, вирус миксомы, вирус фибромы Шоупа, цитопатическое действие вируса

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания.

Для цитирования: Лаптева О. Г., Юрков С. Г., Синдрякова И. П., Луницин А. В. Сравнительная характеристика репродукции вирусов рода *Leporipoxvirus* в перевиваемой культуре клеток. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 323–328. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-323-328.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Лаптева Оксана Георгиевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории «Лекарственные средства для животных» ФГБНУ ФИЦВиМ, 601125, Россия, Владимирская обл., Петушинский р-н, пос. Вольгинский, ул. Академика Бакулова, стр. 1, e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru.

Comparative characterization of *Leporipoxvirus* members' reproduction in continuous cell culture

O. G. Lapteva¹, S. G. Yurkov², I. P. Sindryakova³, A. V. Lunitsin⁴

Federal Research Center for Virology and Microbiology (FRCVM), Volginsky, Vladimir Oblast, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-4435-8368>, e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-6801-9424>, e-mail: patronn13@rambler.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-5947-9402>, e-mail: isindryakova@ficvim.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5043-446X>, e-mail: lunicy@mail.ru

SUMMARY

Examination of the virus-cell interactions is of both scientific and practical importance. Our study was aimed at comparative characterization of rabbit myxoma virus and Shope fibroma virus biological properties that manifested during the virus reproduction in RK-13/2-03 clonal continuous rabbit kidney cell culture. It was demonstrated that the viruses varied in infection development and cytopathic effect duration in RK-13/2-03 cell culture. Apparent lesions in cell monolayers infected by myxoma virus and fibroma virus at similar multiplicity of infection and cultivation temperature were observed on day 2 and day 3 of cultivation, respectively, as well as maximum cell lesions with evident degeneration were observed on day 3 and day 6 of cultivation, respectively. Myxoma virus was accumulated at titre of 6.25–6.50 lg TCID₅₀/0.2 cm³, and Shope fibroma virus was accumulated at titre of 5.50–5.75 lg TCID₅₀/0.2 cm³. Shope fibroma virus demonstrated such

infectivity during three passages and myxoma virus demonstrated such infectivity during twenty passages. Prepared cultures were identified as myxoma virus and Shope fibroma virus with molecular genetic analysis. Tests of the viruses for their antigenic relatedness showed that antibodies against myxoma virus were able to neutralize Shope fibroma virus also. NT titres of antibodies against both viruses were similar (1:8). RK-13/2-03 cell culture was found to be highly permissive to Shope fibroma virus that had been isolated from the diseased rabbit and not been an attenuated variant.

Keywords: continuous cell culture, myxoma virus, Shope fibroma virus, virus-specific cytopathic effect

Acknowledgements: The studies were performed in the framework of governmental programme.

For citation: Lapteva O. G., Yurkov S. G., Sindryakova I. P., Lunitsin A. V. Comparative characterization of *Leporipoxvirus* members' reproduction in continuous cell culture. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 323–328. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-323-328.

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

For correspondence: Oksana G. Lapteva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Veterinary Medicinal Products, FRCVM, 601125, Russia, Vladimir Oblast, Petushinsky Raion, Volginsky, ul. Academician Bakoulov, bld. 1, e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Использование в качестве клеточного субстрата перевиваемых линий клеток (ПЛК) для накопления вирусного и антигенного сырья при разработке ветеринарных противовирусных вакцин с значительно повысило эффективность и стабильность биотехнологических процессов. Применение ПЛК позволило значительно снизить связанные с возможной эндогенной контаминацией риски, которые могут иметь место при использовании первичных культур клеток, решить ряд этических проблем, возникающих при отборе донорской ткани млекопитающих, и в целом повысить биобезопасность целевого продукта.

Возможность использования ПЛК для культивирования определяется прежде всего перmissивностью выбранной клеточной системы к вирусу.

В связи с этим изучение характера взаимодействия вируса с клеткой и последующая оптимизация условий и параметров культивирования имеет как научное, так и практическое значение.

Вирусы семейства *Poxviridae* инфицируют многие виды млекопитающих, репродуцируются в цитоплазме клеток-мишеней, поражая как кожные покровы, так и внутренние органы, и способны вызывать эпизоотии, наносящие значительный экономический ущерб [1, 2]. Семейство подразделяют на 2 подсемейства: *Chordopoxvirinae* и *Entomopoxvirinae* [3]. В первое входит 11 родов вирусов, которые вызывают заболевания как у животных (оспа коров, оспа обезьян [4], оспа буйволов [5], оспа овец и оспа коз [6], заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота [7], оспа птиц [8], миксоматоз и фиброматоз кроликов [9, 10], оспа белок [11] и т. д.), так и у человека (натуральная оспа). Второе подсемейство включает 3 рода вирусов, циркулирующих среди насекомых. Среди представителей *Chordopoxvirinae* есть рода, которые имеют ограниченный круг хозяев. Такими являются вирусы рода *Leporipoxvirus*, вызывающие заболевания только у кроликов, зайцев и белок.

Фиброматоз кроликов (фиброма Шоупа) – вирусная болезнь домашних и диких кроликов, основным патогномичным признаком которой является появле-

ние под кожей и слизистой оболочкой ограниченных узлов или диффузных разрастаний соединительной ткани (фибром).

Миксоматоз кроликов – инфекционная, остро протекающая высококонтагиозная вирусная болезнь, характеризующаяся серозно-гнойным конъюнктивитом, отечно-студенистой инфильтрацией клетчатки в области головы и наружных половых органов, образованием опухолевых узелков на коже.

То и другое заболевание вызывает ДНК-содержащий вирус. По морфологическим характеристикам эти возбудители существенно не отличаются от вируса осповакцины крупного рогатого скота. Зрелый вирус миксомы имеет размер 250–370 нм, а вирус фибромы Шоупа – 125–240 нм. Вирионы вируса миксомы имеют кирпичевидную форму с закругленными углами; внешняя оболочка ворсинчатая; нуклеотид гантелевидной формы, ДНК – двунитчатая [12].

Зрелая форма вириона вируса фибромы Шоупа кирпичеобразная с округленными краями. По антигенным и иммуногенным свойствам вирусы фибромы и миксомы родственны, поэтому кролики, переболевшие фиброматозом, устойчивы к возбудителю миксоматоза [13].

Оба вируса размножаются в куриных эмбрионах, но характер вызываемых поражений различен. При культивировании вируса миксомы на хорионаллантоисной оболочке образуются характерные фокусы (оспины), и в дальнейшем эмбрион погибает, при том как вирус фибромы приводит к слабовыраженным изменениям, и эмбрион не погибает. Вирус миксомы в первичных и перевиваемых культурах клеток почек крольчат вызывает яркие цитопатические изменения, характеризующиеся округлением клеток и дегенерацией клеточного пласта. При репродукции вируса фибромы как в первичной, так и в перевиваемой культуре клеток цитопатический эффект слабо выражен [12].

Особенностью репродукции поксвирусов в культуре клеток является размножение в цитоплазме и выход зрелых вирионов из клетки путем ее разрушения либо без разрыва клеточной оболочки (экзоцитоз). Сам цитопатический эффект характеризуется пикнозом, смор-

щиванием и деструкцией клетки. Однако представители этого семейства вирусов имеют свои особенности проявления при взаимодействии с клеткой *in vitro*. Хинце и Уокер при культивировании вируса фибромы Шоупа в клетках почки кролика выявляли слабый цитотоксический эффект [14].

В отечественной литературе информация о культивировании вирусов рода *Leporipoxvirus* немногочисленна.

В связи с вышеизложенным целью настоящих исследований явилась сравнительная оценка проявления ряда биологических свойств вирусов миксомы и фибромы Шоупа кроликов при репродукции в клональной перевиваемой линии клеток почки кролика RK-13/2-03 как основы совершенствования технологии производства вакцинных препаратов против болезней, вызываемых этими патогенами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали: клон сублинии перевиваемых клеток почки кролика RK-13/2-03 (кат. № 36.2) коллекции клеточных культур ФГБНУ ФИЦВиМ [15]; патогенный для кроликов вирус фибромы Шоупа, выделенный из патматериала, с инфекционной активностью на кроликах на уровне 5-го пассажа $4,11 \lg \text{ID}_{50}/\text{мл}$; вирус миксомы кроликов (вакцинный штамм В-82) с инфекционной активностью $6,5 \lg \text{TCID}_{50}/\text{см}^3$. Используемые штаммы вирусов получали из «Государственной коллекции микроорганизмов, вызывающих опасные, особо опасные, в том числе зооантропонозные и не встречающиеся на территории страны болезни животных» (реестровый номер ЦКП – 441429, <http://ckp-rf.ru/ckp/441429/>).

Специфическая сыворотка крови кролика к вирусу миксомы с титром в реакции нейтрализации – 1:8.

Питательные среды: Игла DMEM жидкая с аланил-глутамином и глюкозой 4,5 г/л и раствор Дюльбекко (НПП «ПанЭко», Россия); Игла MEM (Sigma, США); фетальная сыворотка крови КРС (Biological Ind., Израиль).

Культуру клеток почки кролика RK-13/2-03 выращивали в культуральных флаконах с ростовой площадью 25 см² и 96-луночных планшетах (Corning, США).

Клонирование сублинии клеток RK-13 с целью повышения уровня ее генетической однородности проводили методом предельных разведений в 96-луночных пластиковых планшетах [16]. Полученные клоны клеток культивировали в среде Игла MEM с 20%-м содержанием фетальной сыворотки крови КРС с 50%-м содержанием кондионированной среды с антибиотиком пенициллином (20 мкг/мл) в течение 10–14 сут. На основании оценки ростовых и вирусрепродуцирующих свойств из 42 клонов линии для дальнейшего культивирования отобран наиболее перспективный клон RK-13/2-03. По результатам кариологического анализа на уровне 18-го пассажа модальному числу соответствовали клетки с 56 хромосомами, а его величина составила 22%. Цитоморфологические исследования показали, что монослой клональной культуры представлен эпителиоподобными клетками полигональной формы. При посадочной концентрации 100 тыс. кл./мл монослой формировался через 48–72 ч. Полученная клональная сублиния клеток RK-13/2-03 сохраняла исходные ростовые свойства и морфологические характеристики в течение 50 пассажей (срок наблюдения).

Вирусы фибромы Шоупа и миксомы кроликов штамма В-82 культивировали в двухсуточной культуре клеток RK-13/2-03, выращенной в среде DMEM с 10% фетальной сыворотки крови КРС. Перед заражением из флаконов удаляли ростовую среду, монослой клеток дважды отмывали раствором Дюльбекко для удаления остатков сыворотки и вносили вирусы с множественностью заражения 0,002–0,003 $\text{TCID}_{50}/\text{кл}$. Адсорбцию вируса проводили при температуре $(33,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 60 мин. Затем во флаконы вносили поддерживающую среду Игла DMEM с 2% фетальной сыворотки крови КРС. Зараженную культуру клеток инкубировали при температуре $(33,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ до полного проявления цитопатического действия (ЦПД) вирусов. Состояние клеток для выявления поражения его вирусами оценивали при просмотре культуральных флаконов под инвертированным микроскопом Olympus (Olympus, Япония).

Инфекционную активность вирусов фибромы Шоупа и миксомы определяли общепринятым методом путем титрования в культуре клеток RK-13/2-03. Для этого клетки RK-13/2-03 рассевали в 96-луночные планшеты с концентрацией 150 тыс. кл./см³. После формирования через 2 сут конфлюэнтного монослоя клетки заражали 10-кратными разведениями (10^{-1} – 10^{-7}) вирусов фибромы Шоупа и миксомы кролика и инкубировали при температуре $(33,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в атмосфере с повышенным до 5% содержанием CO₂ и 95%-й относительной влажности. Длительность наблюдения составляла 10 сут. Результаты титрования оценивали по ЦПД вирусов, титр рассчитывали по Риду и Менчу и выражали в $\lg \text{TCID}_{50}/0,2 \text{ см}^3$.

Выделение ДНК вирусов проводили с использованием набора QIAamp DNA Mini kit (Qiagen, Германия) согласно инструкции производителя.

Для выявления генома вирусов фибромы Шоупа и миксомы кроликов использовали праймеры, предложенные Y. Li et al. [17] и S. Albini et al. [18].

Очистка продуктов полимеразной цепной реакции (ПЦР) была произведена с использованием набора Cleanup Standard kit (ЗАО «Евроген», Россия) с последующим прямым секвенированием по методу Сэнгера на приборе Applied Biosystem 3130 XL DNA Analyser (Applied Biosystems, США) с реагентами Big-DyeTM Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, США).

Антигенное родство между вирусами миксомы и фибромы Шоупа устанавливали в реакции нейтрализации, постановку которой проводили общепринятым методом. В 96-луночные планшеты вносили суспензию клеток RK-13/02-03 с концентрацией 100 тыс. кл./см³ и инкубировали при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в атмосфере с повышенным до 5% содержанием CO₂ и 95%-й относительной влажности в течение 48 ч. Нормальную и специфическую к вирусу миксомы сыворотку крови кроликов раститровывали с двукратным шагом (1:2–1:64) в двух планшетах, затем в первый вносили 1000 доз вируса миксомы, во второй – 1000 доз вируса фибромы Шоупа. Смесь сыворотки и вируса выдерживали при температуре $(33,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в атмосфере с повышенным до 5% содержанием CO₂ и 95%-й относительной влажности, переносили ее в планшеты с культурой клеток и инкубировали при вышеуказанном режиме в течение 10 сут. Начиная с 3-х сут проводили учет результатов.

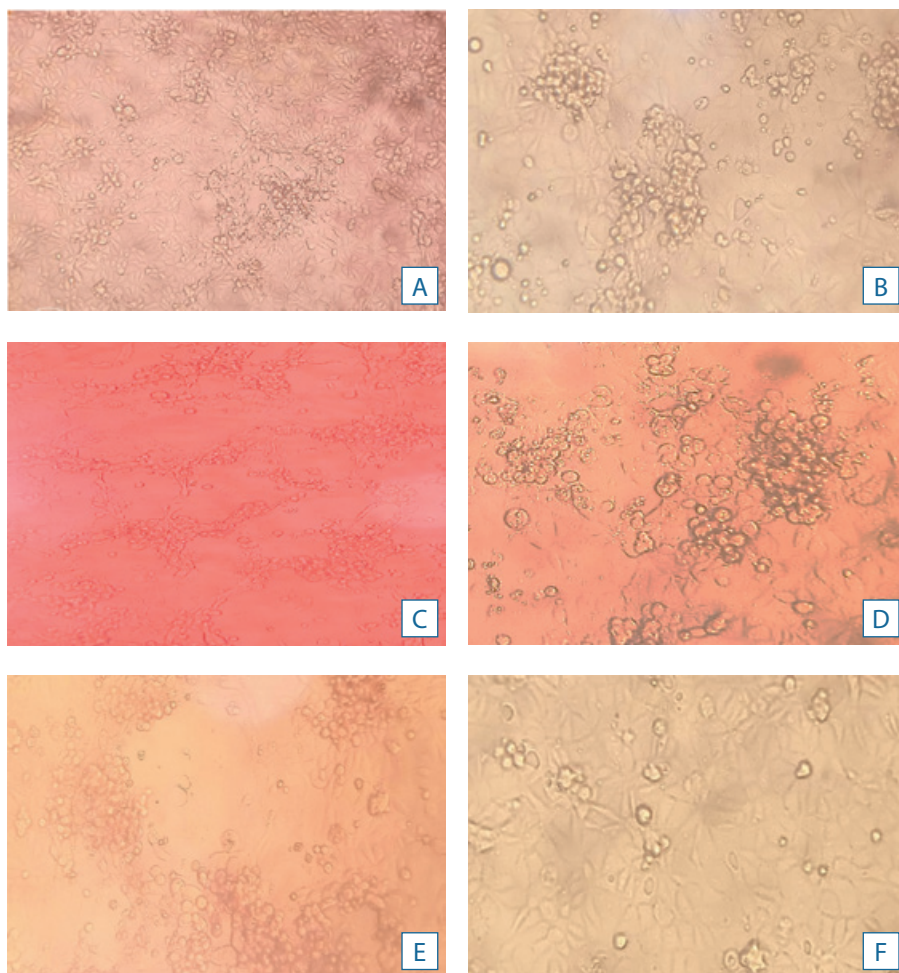


Рис. Динамика и характер ЦПД вирусов миксомы и фибромы Шоупа в культуре клеток RK-13/2-03 (увеличение $\times 100$). Проявление вируса миксомы на 2-е сут (A), проявление вируса фибромы на 3-и сут (B), поражение вирусом миксомы на 3-и сут (C), поражение вирусом фибромы на 4-е сут (D), поражение вирусом фибромы на 5-е сут (E), интактная культура клеток RK-13/2-03 (F)

Fig. Dynamics and nature of CPE caused by myxoma viruses and Shope fibroma virus in RK-13/2-03 cell culture (magnification 100 $\times$). Myxoma virus manifestations on day 2 (A), Shope fibroma virus manifestations on day 3 (B), myxoma virus-associated lesions on day 3 (C), fibroma virus-associated lesions on day 4 (D), fibroma virus-associated lesions on day 5 (E), intact RK-13/2-03 cell (F)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При культивировании вирусов миксомы (штамм В-82) и фибромы Шоупа в культуре клеток RK-13/2-03 видимое проявление репродукции вирусов отмечали на 2-е (рис. A) и 3-и сут (рис. B) инкубирования соответственно. Поражение культуры вирусами в начале развития инфекции характеризовалось скоплением округлых клеток и формированием из них небольших гроздей-стяжек. В инфицированной вирусом миксомы культуре наблюдали характерное появление небольших разрывов клеточного пласта. На 3-и сут выращивания данного вируса отмечали нарастание степени выраженности изменений инфицированного монослоя, проявляющихся в виде деструкции клеточного пласта с образованием «сетки» из вытянутых клеточных элементов, по краям которой находились округлые клетки с резко контурированными уплотненными стенками (рис. C).

Развитие деструктивных процессов в монослое клеток, инфицированных вирусом фибромы, отмечали на 4-е сут инкубирования (рис. D), максимальное

поражение клеток с выраженной дегенерацией – на 5–6-е сут культивирования (рис. E). В интактной культуре (контроль) RK-13/2-03 подобных изменений не отмечено (рис. F).

Таким образом, динамика проявления ЦПД в культуре клеток RK-13/2-03 для вирусов миксомы кролика и фибромы Шоупа различна и составила 3 и 6 сут соответственно. Характер поражения монослоя клеток на протяжении всего цикла культивирования был идентичен.

При оценке накопления вируса в процессе культивирования наблюдали некоторые различия. Инфекционная активность вируса миксомы за период культивирования (3 сут) достигала значений 6,25–6,50 lg ТЦД₅₀/0,2 см³, в то время как титр вируса фибромы Шоупа (6 сут) составил 5,50–5,75 lg ТЦД₅₀/0,2 см³. Данную инфекционную активность регистрировали у вируса фибромы Шоупа на протяжении трех, а вируса миксомы – двадцати пассажных уровней.

В результате проведенной ПЦР были наработаны ампликоны поксвирусов, для определения их при-

надлежащие провели нуклеотидное секвенирование. Полученные последовательности сравнивали с опубликованными последовательностями генов, представленными в базе данных GenBank, при помощи программы Blast (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Молекулярно-генетический анализ подтвердил, что полученные вирусосодержащие материалы идентифицируются как вирус миксомы кроликов и вирус фибромы Шоупа.

При определении в реакции нейтрализации антигенного родства было установлено, что антитела, полученные к вирусу миксомы, способны нейтрализовать и вирус фибромы Шоупа. Титры антител к вирусам миксомы и фибромы Шоупа были идентичны и составили 1:8. Таким образом, подтверждается антигенное родство между вирусами миксомы и фибромы Шоупа.

Установлено, что динамика развития ЦПД в культуре клеток RK-13/2-03 вирусами фибромы Шоупа и миксомы существенно различаются. Видимые проявления поражения клеточного монослоя при одинаковой множественности заражения и температуре культивирования наблюдаются на 2-е сут для вируса миксомы и на 3-и сут для вируса фибромы, что согласуется с данными, полученными при изучении репродукции этих вирусов в первичных культурах клеток [12].

Цитоморфологические исследования показали, что картина изменений в культуре клеток, вызванных исследуемыми вирусами, характерна для представителей семейства *Poxviridae*, при воздействии которых основным эффектом проявления ЦПД является образование округлых клеток и их скопления в виде оспин-бляшек [19].

Подобный эффект отличается от ЦПД, наблюдаемого при репродукции штамма Микс-98 вируса миксомы и проявляющегося стягиванием округлых клеток к центру поражения в виде стяжек в форме «паучка» [20].

Инфекционная активность двух антигенно родственных вирусов, полученных при сходных параметрах культивирования, различна. Вирус миксомы кроликов накапливался в более высоких титрах, это связано с тем, что вакцинный штамм В-82 адаптирован к данной клеточной культуре. В то же время вирус фибромы Шоупа, выделенный из органоидного патологического материала, без предварительной адаптации к клеткам RK-13/2-03 также активно репродуцировался по сравнению с другими вирусами из семейства *Poxviridae*. Например, вирус заразного узелкового дерматита крупного рогатого скота требовал более длительного периода адаптации к перевиваемым культурам клеток. Характерное поражение монослоя клеток RK-13/2-03 исследователи регистрировали начиная с третьего пассажа, в первом пассаже видимых изменений не наблюдали, а во втором поражения были незначительные [21].

В процессе изучения двух вирусов, при отсутствии четко различимых особенностей культивирования, подтверждено их антигенное родство, а при секвенировании культуральных вирусосодержащих материалов установлено соответствие таксономическому положению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сравнительный анализ репродукции вирусов миксомы и фибромы Шоупа в перевиваемой линии клеток почки кролика показал различия в динамике развития цитопатического эффекта. Вирусы вызывают идентич-

ные поражения культуры клеток RK-13/2-03, которые характеризуются округлением эпителиоподобных клеток монослоя с последующим их скоплением в виде оспин. Нарастание деструктивных процессов приводит к разрушению клеточного пласта, образованию структур в виде «сетки», края которой окаймлены округлыми клетками.

Показано, что инфекционная активность полученного вирусного материала была выше у вируса миксомы, который является культуральным вакцинным штаммом (В-82).

В реакции нейтрализации подтверждено антигенное родство вирусов миксомы и фибромы Шоупа, относящихся к роду *Leporipoxvirus*.

Установлен высокий уровень перmissивности культуры клеток RK-13/2-03 к вирулентному изоляту вируса фибромы Шоупа, выделенному от больного кролика.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Семакина В. П., Жильцова М. В., Саввин А. В., Акимов Т. П. Распространение заразного узелкового дерматита (нодулярного дерматита) крупного рогатого скота в мире. *Ветеринария сегодня*. 2017; 3: 13–23. Режим доступа: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/314>.
2. Yune N., Abdela N. Epidemiology and economic importance of sheep and goat pox: a review on past and current aspects. *J. Vet. Sci. Technol.* 2017; 8 (2):1000430. DOI: 10.4262/2157-7579.1000430.
3. Family – Poxviridae. In: *Virus Taxonomy*. Ed. by A. M. Q. King, M. J. Adams, E. B. Carstens, E. J. Lefkowitz. Oxford: Elsevier; 2012; 291–309. DOI: 10.1016/B978-0-12-384684-6.00028-8.
4. Борисевич С. В., Логинова С. Я., Кротков В. Т., Терентьев А. И. Оспа обезьян. *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2015; 1 (10): 59–65. Режим доступа: https://infect-dis-journal.ru/ru/articles_infection/218.html?SSr=100134654314ffffff27c__07e50a0b0e0a0b-4930.
5. Борисевич С. В., Маренникова С. С., Стомба Л. Ф., Петров А. А., Кротков В. Т., Махлай А. А. Оспа буйволов. *Вопросы вирусологии*. 2016; 61 (5): 200–204. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-5-200-204.
6. Spickler A. R. Sheep pox and Goat pox. August 2017. Режим доступа: https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/sheep_and_goat_pox.pdf.
7. Закутский Н. И., Балышев В. М., Юрков С. Г., Гузлова А. Г., Луницин А. В. Нодулярный дерматит крупного рогатого скота: характеристика возбудителя болезни, распространение, диагностика и меры борьбы (обзор литературы). *Ветеринарный врач*. 2016; 4: 3–12. eLIBRARY ID: 26492763.
8. Tripathy D. N., Hanson L. E., Killinger A. H. Studies on differentiation of avian pox viruses. *Avian Dis.* 1973; 17 (2): 325–333. DOI: 10.2307/1589216.
9. Коломыцев А. А., Бурдинская О. Н. Миксоматоз кроликов. *Кролиководство и звероводство*. 2005; 6: 24–26. eLIBRARY ID: 20432927.
10. Леонтьев С. В., Дубницкий А. А., Гусев Б. А., Демина М. Ф. Болезни кроликов. М.: Колос; 1974. 239 с.
11. Борисевич С. В., Стомба Л. Ф., Павельев Д. И. Оспа белок (*Poxviridae*, *Chordopoxvirinae*, SQPV – Squirrel poxvirus). *Вопросы вирусологии*. 2018; 63 (2): 53–57. DOI: 10.18821/0507-4088-2018-63-2-53-57.
12. Сюрин В. Н., Самуйленко А. Я., Соловьев Б. В., Фомина Н. В. Вирусные болезни животных. М.: ВНИИБП; 1998. 928 с.
13. Шевченко А. А., Черных О. Ю., Стрельников В. В., Шевченко Л. В. Биологические особенности и болезни нутрий, кроликов. Краснодар: КубГАУ; 2008. 534 с. Режим доступа: <https://kubsau.ru/upload/iblock/779/779734db5ff92deb15d15a987315239f.pdf>.
14. Феннер Ф., Мак-Ослен Б., Мимс С., Сэмбрук Дж., Уайт Д. Биология вирусов животных. Т. 1: пер. с англ. М.: Мир; 1977. 447 с. Режим доступа: <https://bookree.org/reader?file=474791>.
15. Юрков С. Г., Зуев В. В., Сидоров С. И., Кушнир С. Д., Смыслова Н. Ю., Неверовская Н. С. и др. Каталог коллекции клеточных культур ВНИИВВиМ. Покров: ВНИИВВиМ; 2000. 78 с. eLIBRARY ID: 21632428.
16. Puck T. T., Marcus P. I., Cieciura S. J. Clonal growth of mammalian cells in vitro; growth characteristics of colonies from single HeLa cells with and without a feeder layer. *J. Exp. Med.* 1956; 103 (2): 273–284. DOI: 10.1084/jem.103.2.273.
17. Li Y., Meyer H., Zhao H., Damon I. K. GC content-based pan-pox universal PCR assays for poxvirus detection. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48 (1): 268–276. DOI: 10.1128/JCM.01697-09.
18. Albini S., Sigris B., Güttinger R., Schelling C., Hoop R. K., Vöggtlin A. Development and validation of a Myxoma virus real-time polymerase chain reaction assay. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2012; 24 (1): 135–137. DOI: 10.1177/1040638711425946.

19. Жданов В. М., Гайдамович С. Я. Частная вирусология. Т. 2. М.: Медицина; 1982. 520 с.
20. Власова Н. Н., Моргун Ю. П., Цыбанов С. Ж., Колосова М. В., Кадетов В. В., Жестерев В. И. Атенуированный штамм Микс-89 вируса миксомы кроликов (семейство *Poxviridae*, род *Leporipoxvirus*, *Myxoma virus* of rabbits). Патент № 2192465 Российская Федерация, МПК C12N 7/00. ВНИИВВиМ. № 2001108408/13. Заявл. 30.03.2001. Опубликовано. 10.11.2002.
21. Балышева В. И., Живодеров С. П., Пивова Е. Ю., Бобровская Н. К., Живодорова А. В., Анисимова Л. И. и др. Пермиссивность культур клеток различного происхождения при культивировании вируса нодулярно-го дерматита. *Сельскохозяйственная биология*. 2017; 52 (6): 1265–1272. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.6.1265rus.

REFERENCES

1. Semakina V. P., Zhiltsova M. V., Savvin A. V., Akimova T. P. Occurrence of lumpy skin disease in cattle in the world. *Veterinary Science Today*. 2017; 3: 13–23. Available at: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/314>.
2. Yune N., Abdela N. Epidemiology and economic importance of sheep and goat pox: a review on past and current aspects. *J. Vet. Sci. Technol.* 2017; 8 (2): 1000430. DOI: 10.4262/2157-7579.1000430.
3. Family – Poxviridae. In: *Virus Taxonomy*. Ed. by A. M. Q. King, M. J. Adams, E. B. Carstens, E. J. Lefkowitz. Oxford: Elsevier; 2012; 291–309. DOI: 10.1016/B978-0-12-384684-6.00028-8.
4. Borisevich S. V., Loginova S. Ya., Krotkov V. T., Terent'ev A. I. Monkeypox. *Infectious Diseases: News, Opinions, Training*. 2015; 1 (10): 59–65. Available at: https://infect-dis-journal.ru/ru/articles_infection/218.html?SSr=100134654314ffffff27c_07e50a0b0e0a0b-4930. (in Russ.)
5. Borisevich S. V., Marennikova S. S., Stovba L. F., Petrov A. A., Krotkov V. T., Makhlay A. A. Buffalopox. *Problems of Virology*. 2016; 61 (5): 200–204. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-5-200-204. (in Russ.)
6. Spickler A. R. Sheep pox and Goat pox. August 2017. Available at: https://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/sheep_and_goat_pox.pdf.
7. Zakutskiy N. I., Balyshev V. M., Jurkov S. G., Guzalova A. G., Lunitsin A. V. Lumpy skin disease: characteristics of the pathogen, its spread, detection, and control measures (literature review). *Veterinarian*. 2016; 4: 3–12. eLIBRARY ID: 26492763. (in Russ.)
8. Tripathy D. N., Hanson L. E., Killinger A. H. Studies on differentiation of avian pox viruses. *Avian Dis.* 1973; 17 (2): 325–333. DOI: 10.2307/1589216.
9. Kolomytsev A. A., Burdinskaya O. N. Miksomatoz krolikov = Rabbit myxomatosis. *Krolikovodstvo i zverovodstvo*. 2005; 6: 24–26. eLIBRARY ID: 20432927. (in Russ.)
10. Leontyuk S. V., Dubnitskii A. A., Gusev B. A., Demina M. F. Bolezni krolikov = Rabbit diseases. Moscow: Kolos; 1974. 239 p. (in Russ.)
11. Borisevich S. V., Stovba L. F., Paveliev D. I. Poxvirus disease of squirrels (*Poxviridae*, *Chordopoxvirinae*, SQPV – Squirrel poxvirus). *Voprosy Virusologii*. 2018; 63 (2): 53–57. DOI: 10.18821/0507-4088-2018-63-2-53-57.
12. Syurin V. N., Samuilenko A. Ya., Solov'ev B. V., Fomina N. V. Virusnye bolezni zhivotnykh = Viral animal diseases. Moscow: VNITIBP; 1998. 928 p. (in Russ.)
13. Shevchenko A. A., Chernykh O. Yu., Strel'nikov V. V., Shevchenko L. V. Biologicheskie osobennosti i bolezni nutrii, krolikov = Biological features and diseases of nutrias and rabbits. Krasnodar: KubGAU; 2008. 534 p. Available at: <https://kubsau.ru/upload/iblock/779/779734db5ff92deb-15d15a987315239f.pdf>. (in Russ.)
14. Fenner F., McAuslan B. R., Mims S., Sambrook J., White D. O. The Biology of Animal Viruses. 2nd ed. Vol. 1. Academic Press; 1974. 850 p. Available at: <https://www.elsevier.com/books/the-biology-of-animal-viruses/fenner/978-0-12-253040-1>.
15. Yurkov S. G., Zuev V. V., Sidorov S. I., Kushnir S. D., Smyslova N. Yu., Neverovskaya N. S., et al. Katalog kollektii kletochnykh kul'tur VNIIVViM = Catalogue of the VNIIVViM Collection of Cell Cultures. Pokrov: VNIIVViM; 2000. 78 p. eLIBRARY ID: 21632428. (in Russ.)
16. Puck T. T., Marcus P. I., Cieciura S. J. Clonal growth of mammalian cells in vitro; growth characteristics of colonies from single HeLa cells with and without a feeder layer. *J. Exp. Med.* 1956; 103 (2): 273–284. DOI: 10.1084/jem.103.2.273.
17. Li Y., Meyer H., Zhao H., Damon I. K. GC content-based pan-pox universal PCR assays for poxvirus detection. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48 (1): 268–276. DOI: 10.1128/JCM.01697-09.
18. Albini S., Sigrist B., Güttinger R., Schelling C., Hoop R. K., Vögtlin A. Development and validation of a Myxoma virus real-time polymerase chain reaction assay. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2012; 24 (1): 135–137. DOI: 10.1177/1040638711425946.
19. Zhdanov V. M., Gaidamovich S. Ya. Chastnaya virusologiya = Specific Virology. Vol. 2. Moscow: Meditsina; 1982. 520 p. (in Russ.)
20. Vlasova N. N., Morgunov Yu. P., Tsybanov S. Zh., Kolosova M. V., Kadetov V. V., Zhesterev V. I. Attenuated strain Miks-98 (family *Poxviridae*, genus *Leporipoxvirus*, *Myxoma virus* of rabbits) of rabbit myxoma virus. Patent No. 2192465 Russian Federation, Int. C12N 7/00. VNIIVViM. No. 2001108408/13. Date of filing: 30.03.2001. Date of publication: 10.11.2002. (in Russ.)
21. Balysheva V. I., Zhivoderoorov S. P., Pivova E. Yu., Bobrovskaya N. K., Zhivoderoorova A. V., Anisimova L. I., et al. Permissivity of various cell cultures to lumpy skin disease virus. *Agricultural Biology*. 2017; 52 (6): 1265–1272. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.6.1265rus. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 14.07.2021

Поступила после рецензирования / Revised 03.08.2021

Принята к публикации / Accepted 12.10.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Лаптева Оксана Георгиевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории «Лекарственные средства для животных» ФГБНУ ФИЦВиМ, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия.

Юрков Сергей Григорьевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории «Лекарственные средства для животных» ФГБНУ ФИЦВиМ, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия.

Синдрякова Ирина Петровна, кандидат биологических наук, заведующий сектором лаборатории диагностики и мониторинга ФГБНУ ФИЦВиМ, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия.

Луницин Андрей Владимирович, кандидат ветеринарных наук, главный научный сотрудник, заместитель директора по производству и качеству ФГБНУ ФИЦВиМ, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия.

Oksana G. Lapteva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Veterinary Medicinal Products, FRCVM, Volginsky, Vladimir Oblast, Russia.

Sergey G. Yurkov, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory for Veterinary Medicinal Products, FRCVM, Volginsky, Vladimir Oblast, Russia.

Irina P. Sindryakova, Candidate of Science (Biology), Head of Sector, Laboratory for Diagnosis and Monitoring, FRCVM, Volginsky, Vladimir Oblast, Russia.

Andrey V. Lunitsin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Deputy Director for Production and Quality, FRCVM, Volginsky, Vladimir Oblast, Russia.



Эхинококкоз собак в субъектах Северного Кавказа (инфраструктурный, эпизоотологический и санитарно-гигиенический анализ)

С. Ш. Кабардиев¹, А. М. Биттиров², С. А. Айгубова³, Н. Х. Гюльяхмедова⁴

Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» (Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»), г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0001-6129-8371>, e-mail: pznivi05@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-2131-5020>, e-mail: bam_58a@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-6982-2203>, e-mail: sabina.aygubova@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-5389-507X>, e-mail: gulahmedovanaimat058@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Согласно данным официальной статистики, в Российской Федерации ситуация по паразитарным болезням остается неблагополучной. Вопросы санитарного загрязнения почв разных объектов яйцами *Echinococcus granulosus* остаются недостаточно изученными, поэтому целью исследования являлось изучение эхинококкоза собак как угрозы эпизоотическому, эпидемиологическому и санитарно-гигиеническому благополучию субъектов Северного Кавказа. Гельминтологические исследования проб фекасов приотарных собак провели в семи регионах Северного Кавказа: Ставропольском крае, Карачаево-Черкесской Республике, Кабардино-Балкарской Республике, Республике Северная Осетия – Алания, Республике Ингушетия, Чеченской Республике, Республике Дагестан. В результате установлено, что средний индекс встречаемости инвазии эхинококкоза составил 85,07%. В 1400 пробах средний индекс обилия яиц *Echinococcus granulosus* был равен $22,73 \pm 1,49$ экз. в 10 г фекасов собак. Полученные данные свидетельствуют о санитарном неблагополучии субъектов по данной инвазии и широком распространении зооноза в региональном масштабе. Санитарно-гельминтологические исследования 14 000 проб почвы приотарных пастбищ на обсемененность яйцами тениат, в т. ч. *Echinococcus granulosus*, показали, что в Ставропольском крае инвазированность составила 65,80%, в Карачаево-Черкесии экстенсивный показатель инвазии почв составил 79,00%, в Кабардино-Балкарии – 82,60%, в Северной Осетии – Алании – 74,65%, в Ингушетии – 88,20%, в Чечне – 83,75%, в Дагестане – 79,85%. Представленные результаты указывают на высокий уровень контаминации почв региона инвазионными элементами. Показано, что обсемененность почв пастбищных угодий жизнеспособными яйцами *Echinococcus granulosus* находилась в прямой зависимости от экологических особенностей региона: наибольшее количество жизнеспособных яиц *Echinococcus granulosus* содержалось в почвах предгорной зоны, меньшее – на равнинной территории и минимальное – в горной зоне. При этом установленного количества яиц в пробах почвы пастбищ достаточно для поддержания стойкого неблагополучия субъектов по эхинококкозу животных и человека. Результаты санитарно-гельминтологической экспертизы 7500 проб почв 119 скотопогонных трасс субъектов Северного Кавказа свидетельствуют о 100%-й обсемененности паразитарными агентами, что создает угрозу осложнения эпидемиологической и эпизоотической обстановки по эхинококкозу на территории региона.

Ключевые слова: Северный Кавказ, приотарная собака, цестода, вид *Echinococcus granulosus*, экспертиза, фекасы, яйца, обсемененность, загрязнение, пастбища, почва

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

Для цитирования: Кабардиев С. Ш., Биттиров А. М., Айгубова С. А., Гюльяхмедова Н. Х. Эхинококкоз собак в субъектах Северного Кавказа (инфраструктурный, эпизоотологический и санитарно-гигиенический анализ). *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 329–334. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-329-334.

Прозрачность финансовой деятельности: Авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Кабардиев Садрутдин Шамшитович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», 367000, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88, e-mail: pznivi05@mail.ru.

Echinococcosis of dogs in the North Caucasian Subjects (infrastructural, epizootological and sanitary-hygienic analysis)

S. Sh. Kabardiev¹, A. M. Bittirov², S. A. Aigubova³, N. Kh. Gyulakhmedova⁴

Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia

© Кабардиев С. Ш., Биттиров А. М., Айгубова С. А., Гюльяхмедова Н. Х., 2021

¹ <https://orcid.org/0000-0001-6129-8371>, e-mail: pznivi05@mail.ru² <https://orcid.org/0000-0003-2131-5020>, e-mail: bam_58a@mail.ru³ <https://orcid.org/0000-0001-6982-2203>, e-mail: sabina.aygubova@mail.ru⁴ <https://orcid.org/0000-0001-5389-507X>, e-mail: gulahmedovanaimat058@gmail.com

SUMMARY

Based on the official statistics the situation of parasitic diseases in the Russian Federation is still quite unfavorable. The issues of soil contamination with *Echinococcus granulosus* eggs are understudied that's why the objective of the research was to study canine echinococcosis which poses a threat to animal and human disease freedom in the North Caucasian countries. Helminthological tests of the guardian dog feces were performed in seven North Caucasian Subjects: the Stavropol Krai, the Karachay-Cherkessia Republic, the Kabardino-Balkaria Republic, Republic of North Ossetia – Alania, Republic of Ingushetia, the Chechen Republic, and the Republic of Dagestan. As a result, it was determined that the average frequency index of echinococcosis occurrence was 85.07%. The moderate fecal egg count in 1,400 samples was 22.73 ± 1.49 eggs per 10 grams of dog feces. The data obtained are indicative of the disease unfavourable situation in the Subjects and the zoonosis spread at the regional level. Helminthological tests of 14,000 soil samples from near-village pastures for contamination with tapeworm eggs, including *Echinococcus granulosus*, showed that the invasion rate in the Stavropol Krai was 65.80%, in Karachay-Cherkessia republic – 79.00%, in Kabardino-Balkaria – 82.60%, in North Ossetia – Alania – 74.65%, in Ingushetia – 88.20%, in Chechnya – 83.75%, in Dagestan – 79.85%. The results obtained testify to the high level of soil contamination with the infective eggs. It was demonstrated that there is a relationship between the distribution of viable *Echinococcus granulosus* eggs in pasture soils and ecological characteristics of the Subject: the largest number of viable *Echinococcus granulosus* eggs was observed in submountain areas, fewer eggs were observed in flatlands, and the least number of eggs – in the mountain areas. The number of eggs detected in the soil samples from pastures is indicative of the disease persistence in humans and animals. Results of the helminthological tests of 7,500 soil samples from 119 cattle-driving routes of the North Caucasus demonstrate 100% contamination with parasitic agents which poses a threat of epidemiological and epizootological situation of echinococcosis in the Subject.

Keywords: North Caucasus, guardian dogs, cestode, *Echinococcus granulosus* species, examination, feces, eggs, distribution, pollution, pastures, soil

Acknowledgements: This work was financially supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the framework of the Program of Fundamental Scientific Research of State Academies of Sciences for 2013–2020 in the area of Molecular biological and nanobiotechnological methods of creating new generation biological products, technologies and methods of their application to combat especially dangerous infectious, parasitic and non-infectious diseases of animals.

For citation: Kabardiev S. Sh., Bittirov A. M., Aigubova S. A., Gyulakhmedova N. Kh. Echinococcosis of dogs in the North Caucasian Subjects (infrastructural, epizootological and sanitary-hygienic analysis). *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 329–334. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-329-334.

Transparency of financial activities: The authors have no financial interest in the presented materials or methods.

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

For correspondence: Sadrutdin Sh. Kabardiev, Doctor of Sciences (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Head of the Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 367000, Russia, Republic of Dagestan, Makhachkala, ul. Dakhadaeva, 88, e-mail: pznivi05@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Многочисленными исследованиями доказано, что *Echinococcus granulosus* (*E. granulosus*) является опасным паразитом для более 100 видов животных и человека. Данный вид гельминтов представляет эпидемиологический риск для здоровья людей в Российской Федерации [1–12].

По данным Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) и Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО), эхинококкоз плотоядных животных домашних и диких видов в странах Южной Африки регистрируется со средним индексом встречаемости, равным 86,5% [13–16], в странах Юго-Восточной Азии данный показатель составляет 75,9% [17, 18], в Латинской Америке – 68,3% [19], в Северной Америке – 62,8% [20].

По сведениям МЭБ и ФАО, эхинококкоз жвачных животных домашних и диких видов в странах Африки проявляется в виде эпизоотий со средним индексом встречаемости 42,8%, в более чем 40 из них частота

встречаемости заболевания составляет 58,5% [14, 21]. В странах Юго-Восточной Азии встречаемость эхинококкоза жвачных равна 39,6% [18], в странах Латинской Америки – 34,5% [22], в странах Северной Америки – 28,4% [20, 23–25].

По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), эхинококкоз входит в число заболеваний паразитарной этиологии с планетарным эпидемиологическим риском и частотой встречаемости от 300 до 1250 случаев на 100 тыс. населения [4].

В Российской Федерации эхинококкоз овец и крупного рогатого скота является важной проблемой для многих отраслей животноводства и одной из главных причин снижения сохранности и реализации потенциала всех видов продуктивности у более 500 пород и линий продуктивных животных и превышает аналогичные показатели по заболеваемости в странах Европы в 2–3,5 раза [26].

Как в Российской Федерации, так и в мировом масштабе вопросы санитарного загрязнения почв разных

инфраструктурных объектов яйцами *E. granulosus* остаются недостаточно изученными [2, 27].

Целью исследований являлось изучение эхинококкоза собак как угрозы эпизоотическому, эпизоотическому и санитарно-гигиеническому благополучию субъектов Северного Кавказа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В семи субъектах Северного Кавказа (Ставропольском крае, республиках Карачаево-Черкесия, Кабардино-Балкария, Северная Осетия – Алания, Ингушетия, Чечня, Дагестан) методами прижизненной диагностики (копроовоскопия, гельминтоскопия, метод нативного мазка, методы Демидова и Фюллеборна) исследовано 1400 проб фекалий от 1400 приотарных собак свободного выгула с целью изучения эпизоотической активности *E. granulosus*.

При проведении санитарно-гельминтологической экспертизы почвы на обсеменение яйцами тений, в т. ч. *E. granulosus*, было исследовано 14 000 проб почвы приотарных пастбищ и 7500 проб почвы 119 скотопрогонных трасс сертифицированными в паразитологии овоскопическими методами.

Статистическую обработку материала проводили с помощью компьютерной программы «Биометрия».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В экспериментальных условиях в семи субъектах Северного Кавказа проведены гельминтологические исследования проб фекалий приотарных собак на эхинококкоз плотоядных животных с последующим определением индексов встречаемости и обилия *E. granulosus* для оценки рисков для здоровья людей и животных (табл. 1).

Как показали результаты данных исследований, средний индекс встречаемости эхинококкоза собак в субъектах Северного Кавказа составил 85,07%, что указывает на широкое распространение паразитарного зооноза в региональном масштабе.

Средний индекс обилия яиц *E. granulosus* при обследовании 1400 проб фекалий был равен $22,73 \pm 1,49$ экз. в 10 г экскрементов собак, что также свидетельствует о санитарном неблагополучии субъектов по данной инвазии.

Результаты изучения обсемененности (в %) почв приотарных пастбищ яйцами тений, в т. ч. *E. granulosus*, в регионах Северного Кавказа, по данным копрологического исследования проб фекалий, представлены в таблице 2.

Установлено, что в Ставропольском крае почвы приотарных пастбищ обсеменены в 65,80% случаев, в Карачаево-Черкесской Республике – в 79,00%, в Кабардино-Балкарской Республике – в 82,60%, в Республике Северная Осетия – Алания – в 74,65%, в Республике Ингушетия – в 88,20%, в Чеченской Республике – в 83,75%, в Республике Дагестан – в 79,85% случаев. Таким образом, средний индекс встречаемости яиц возбудителя эхинококкоза в пробах почв данной категории составил 79,12%, что указывает на высокий уровень контаминации почв региона инвазионными элементами.

При исследовании 14 000 проб почвы приотарных пастбищных угодий индекс обилия инвазионных яиц *E. granulosus* был равен $19,71 \pm 1,20$ экз. в расчете на 10 г пробы, что также свидетельствует об эпизоотически опасном санитарном загрязнении.

Таким образом, результаты гельминтологических исследований проб фекалий собак и санитарно-гельминтологической экспертизы почв показали, что все семь субъектов Северного Кавказа (Ставропольский край, Карачаево-Черкесская Республика, Кабардино-Балкарская Республика, Республика Северная Осетия –

Таблица 1

Результаты гельминтологических исследований проб фекалий приотарных собак на эхинококкоз, вызванный цестодой *E. granulosus*, в субъектах Северного Кавказа (по данным копроовоскопии проб фекалий, %)

Table 1

The results of helminthological tests of guardian dog feces samples for *Echinococcus* caused by the cestode *E. granulosus* in the North Caucasian Subjects (according to Ova and Parasite Test of feces samples, %)

Субъекты Северного Кавказа	Исследовано особей	Количество особей, зараженных тениями, в т. ч. <i>E. granulosus</i>	Индекс встречаемости, %	Средний индекс обилия яиц <i>E. granulosus</i> в 10 г фекалий собак, экз.
Ставропольский край	200	155	77,50	$18,76 \pm 1,20$
Карачаево-Черкесская Республика	200	170	85,00	$23,40 \pm 1,50$
Кабардино-Балкарская Республика	200	179	89,50	$26,82 \pm 1,70$
Республика Северная Осетия – Алания	200	164	82,00	$20,79 \pm 1,40$
Республика Ингушетия	200	182	91,00	$28,65 \pm 1,90$
Чеченская Республика	200	169	84,50	$21,21 \pm 1,30$
Республика Дагестан	200	172	86,00	$19,50 \pm 1,40$
Всего	1400	1191	85,07	$22,73 \pm 1,49$

Таблица 2

Результаты санитарно-гельминтологической экспертизы почв пастбищ субъектов Северного Кавказа на контаминацию яйцами тений, в т. ч. *E. granulosus*

Table 2

The results of the sanitary and helminthological examination of the pasture soils for contamination with tenia eggs, including *E. granulosus*, in the North Caucasian Subjects

Субъекты Северного Кавказа	Исследовано проб почвы	Количество проб почвы, контаминированной яйцами тений, в т. ч. <i>E. granulosus</i>	Индекс встречаемости яиц тений, в т. ч. <i>E. granulosus</i> , %	Средний индекс обилия яиц <i>E. granulosus</i> в 10 г почвы, экз.
Ставропольский край	2000	1316	65,80	$15,72 \pm 0,90$
Карачаево-Черкесская Республика	2000	1580	79,00	$20,40 \pm 1,20$
Кабардино-Балкарская Республика	2000	1652	82,60	$23,81 \pm 1,40$
Республика Северная Осетия – Алания	2000	1493	74,65	$16,78 \pm 1,10$
Республика Ингушетия	2000	1764	88,20	$24,60 \pm 1,50$
Чеченская Республика	2000	1675	83,75	$19,20 \pm 1,20$
Республика Дагестан	2000	1597	79,85	$17,48 \pm 1,10$
Всего	14 000	11 077	79,12	$19,71 \pm 1,20$

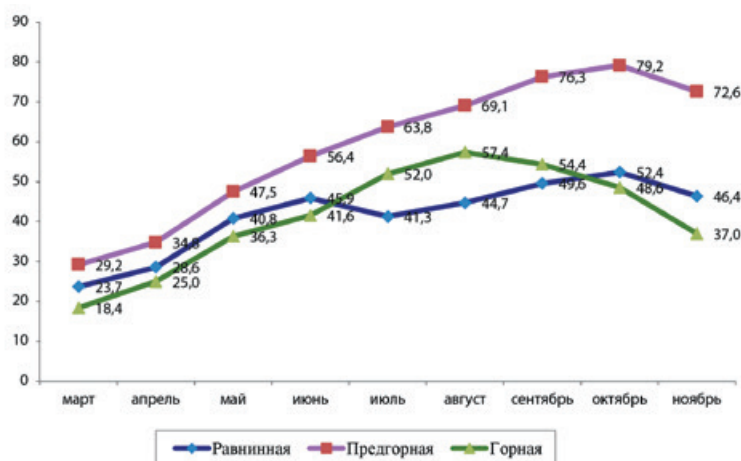


Рис. Средний показатель доли жизнеспособных яиц *E. granulosus* в пробах почвы пастбищ в теплый период 2020 г. в условиях природно-климатических зон Карачаево-Черкесской Республики, %

Fig. Average proportion of pasture soil samples where viable *E. granulosus* eggs were detected, in the warm period of 2020 in the Karachay-Cherkess Republic climatic zones, %

Таблица 3

Результаты санитарно-гельминтологической экспертизы почв скотопрогонных трасс в субъектах Северного Кавказа на загрязнение яйцами тениат, в т. ч. *E. granulosus*

Table 3

The results of the sanitary and helminthological examination of the cattle-driving routes for contamination with *tenia* eggs, including *E. granulosus*, in the North Caucasian Subjects

Субъекты Северного Кавказа	Исследовано трасс перегона животных	Исследовано проб почвы	Количество проб почвы, загрязненной яйцами <i>E. granulosus</i>	Индекс встречаемости яиц <i>E. granulosus</i> , %
Карачаево-Черкесская Республика	18	900	900	100
Кабардино-Балкарская Республика	22	1230	1230	100
Республика Северная Осетия – Алания	15	700	700	100
Республика Ингушетия	10	500	500	100
Чеченская Республика	13	670	670	100
Республика Дагестан	41	3500	3500	100
Всего	119	7500	7500	100

Алания, Республика Ингушетия, Чеченская Республика и Республика Дагестан) имеют статус неблагополучных по эхинококкозу. Причиной этого является слабая реализация противоэпизоотических мероприятий в отношении данной инвазии и несоблюдение графика плановой дегельминтизации собак.

Исследования, проведенные в вегетационный период 2020 г. в условиях равнинной, предгорной и горной зон Карачаево-Черкесской Республики, показали, что количественное содержание жизнеспособных яиц *E. granulosus* в пробах почвы всех пастбищных угодий находилось в прямой зависимости от экологических особенностей региона, где определяющими факторами

являются сумма эффективных температур и влажность. Полученные результаты отражены на рисунке.

Так, в природно-климатических условиях равнинной зоны изучаемой территории доля проб с жизнеспособными яйцами паразита в почве в июне составляла 45,9% от числа исследованных проб, в июле – 41,3%, в октябре – 52,4% и в конце ноября – 46,4%. В предгорной зоне данный показатель в марте был равен 29,2%, в октябре – 79,2%, а в третьей декаде ноября – 72,6%. В горной зоне количество жизнеспособных яиц *E. granulosus* в пробах почвы пастбищных угодий субъекта с марта по август постепенно увеличивалось с 18,4 до 57,4%, а к концу ноября снизилось до 37,0%.

Таким образом, при сравнении проб со всех пастбищных угодий наибольшее количество жизнеспособных яиц *E. granulosus* содержалось в почвах предгорной зоны, меньшее – на равнинной территории и минимальное – в горной зоне. При этом установленного содержания жизнеспособных яиц *E. granulosus* в пробах почвы пастбищ достаточно для поддержания стойкого неблагополучия всего региона по эхинококкозу животных и человека.

На следующем этапе работы проведена санитарно-гельминтологическая экспертиза 7500 проб почв 119 скотопрогонных трасс в 6 субъектах Северного Кавказа на предмет обнаружения яиц тениат, в т. ч. *E. granulosus* (табл. 3).

Результаты проведенной санитарно-гельминтологической экспертизы указывают на высокий уровень загрязнения почв скотопрогонных трасс инвазионными элементами паразита. Все исследованные пробы почвы (100%) трасс перегона животных были обсеменены жизнеспособными яйцами *E. granulosus*, что может стать одной из главных угроз санитарно-эпидемиологическому и эпизоотическому благополучию шести регионов Северного Кавказа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показали результаты санитарно-гельминтологической экспертизы проб фекал приотарных собак в регионах Северного Кавказа (Ставропольский край, Карачаево-Черкесская Республика, Кабардино-Балкарская Республика, Республика Северная Осетия – Алания, Республика Ингушетия, Чеченская Республика, Республика Дагестан), средний индекс встречаемости инвазии эхинококкоза составил 85,07%, что указывает на широкое распространение данного зооноза в региональном масштабе. В 1400 пробах экскрементов индекс обилия яиц *E. granulosus* был равен $22,73 \pm 1,49$ экз. в 10 г фекал собак.

При проведении санитарно-паразитологических исследований почв присельских пастбищ Ставропольского края установлено, что они в 65,80% случаев обсеменены яйцами тениат, в т. ч. *E. granulosus*, в Карачаево-Черкесской Республике экстенсивный показатель инвазии почв составил 79,00%, в Кабардино-Балкарской Республике – 82,60%, в Республике Северная Осетия – Алания – 74,65%, в Республике Ингушетия – 88,20%, в Чеченской Республике – 83,75%, в Республике Дагестан – 79,85%. Таким образом, средний индекс встречаемости яиц возбудителя эхинококкоза в пробах почв данной категории составил 79,12%, что указывает на высокий уровень загрязнения почв яйцами цестоды. При исследовании 14 000 проб почвы индекс обилия яиц *E. granulosus* был равен $19,71 \pm 1,20$ экз.

в 10 г пробы, что является свидетельством опасного санитарного загрязнения почв пастбищ субъектов Северного Кавказа.

Проведенные в вегетационный период 2020 г. в условиях разных природно-климатических зон Карачаево-Черкесской Республики исследования показали, что наибольшее количество жизнеспособных яиц *E. granulosus* содержалось в почвах предгорной зоны, меньшее – на равнинной территории и минимальное – в горной зоне. При этом установленного содержания жизнеспособных яиц *E. granulosus* в пробах почвы пастбищ достаточно для поддержания стойкого неблагополучия всего региона.

Результаты санитарно-гельминтологической экспертизы почв скотопрогонных трасс субъектов Северного Кавказа свидетельствуют о 100%-й обсемененности яйцами тениат, в т. ч. *E. granulosus*, что создает угрозу осложнения эпидемической и эпизоотической обстановки по эхинококкозу на территории региона.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Байков В. С. Эпизоотологическая характеристика эхинококкоза диких псовых в условиях Краснодарского края. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: материалы докладов научной конференции Всесоюзного общества гельминтологов*. М.: ВИГИС. 1999; 148–150.
- Биттиров А. М. Паразитарные зоонозы как проблема санитарии и гигиены в мире и в Российской Федерации. *Гигиена и санитария*. 2018; 97 (3): 208–212. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-3-208-212.
- Блохина С. В. Распространение эхинококкоза у сельскохозяйственных животных в Омской области. *Труды Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной энтомологии и арахнологии*. Тюмень; 2007; 49: 47–53.
- Всемирная организация здравоохранения. Эхинококкоз. 23 марта 2020 г. Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs377/ru>.
- Сорокин В. В., Колесников В. И. Распространение эхинококкоза в Ставропольском крае. *Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства*. 2010; 3 (1): 129–131. eLIBRARY ID: 16452642.
- Горохов В. В., Самойловская Н. А., Пешков Р. А. Прогноз эпизоотической ситуации в Российской Федерации по основным гельминтозам на 2014 год. *Российский паразитологический журнал*. 2014; 2: 32–33.
- Гузеева Т. М. Состояние заболеваемости паразитарными болезнями в Российской Федерации и задачи в условиях реорганизации службы. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2008; 1: 3–11. eLIBRARY ID: 10333863.
- Кабардиев С. Ш., Биттиров А. М., Пежева М. Х., Карпущенко К. А. Гельминтофауна класса *Cestoda* и ее видовые сочетания у корсака в Прикаспийской низменности Дагестана. *Ветеринария и кормление*. 2015; 6: 6–8. eLIBRARY ID: 25039220.
- Романенко Н. А., Подопригора Г. И., Чистяков Д. А., Акимов Р. Ф., Новосельцев Г. И., Дарченкова Н. Н. и др. Проблема эхинококкозов в Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1994; 6: 43–45.
- Ковалев Н. Г., Назарова Е. О., Шамраева Г. В., Пугачева О. Н., Вафин А. З., Слетков Н. А. и др. Эхинококкоз человека и животных в Ставропольском крае. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2003; 3: 47–48. eLIBRARY ID: 32295759.
- Шамхалов В. М. Экология возбудителей эхинококкоза, ценуроза, тениоза, токсокариоза животных, эпизоотология этих заболеваний и меры борьбы в юго-восточной зоне Северного Кавказа: дис. ... д-ра вет. наук. М.; 1988. 508 с.
- Биттиров А. М., Кагермазов Ц. Б., Калабеков А. А., Эльдарова Л. Х., Мусеев З. Г. Общность и количество видов гельминтов человека и животных в регионе Северного Кавказа. *Аграрная Россия*. 2015; 12: 40–41. DOI: 10.30906/1999-5636-2015-12-40-41.
- Jenkins D. J. *Echinococcus* in Australia: The role of wildlife in transmission, with particular reference to South-Eastern Australia. In: *Cestode Zoonoses: Echinococcosis and Cysticercosis – An Emergent and Global Problem*. Ed. by P. Craig, Z. Pawlowski. IOS Press; 2002; 327–332.
- Macpherson C. N. L., Wachira T. W. M. Cystic echinococcosis in Africa south of the Sahara. In: *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and Middle Eastern Countries with special reference to Morocco*. Eds. F. L. Andersen, H. Ouhelli, M. Kachani. Provo: Brigham Young University Print Services; 1997; 245–277.
- Macpherson C. N. L. Epidemiology of *Echinococcus granulosus* in transhumant situations. In: *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern*. Ed. by J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, Z. S. Pawlowski. Paris: WHO/OIE; 2001; 156–163. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42427/929044522X.pdf?sequence=1>.
- Rausch R. L. Life cycle patterns and geographic distribution of *Echinococcus* species. In: *Echinococcus and hydatid disease*. Eds. R. C. A. Thompson, A. J. Lymbery. Wallingford: CAB International; 1995; 88–134.
- Rausch R. L., D'Alessandro A., Rausch V. R. Characteristics of the larval *Echinococcus vogeli* Rausch and Bernstein, 1972 in the natural intermediate host, the paca, *Cuniculus paca* L. (Rodentia: Dasyproctidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1981; 30 (5): 1043–1052. DOI: 10.4269/ajtmh.1981.30.1043.
- Zhang L. H., Joshi D. D., McManus D. P. Three genotypes of *Echinococcus granulosus* identified in Nepal using mitochondrial DNA markers. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2000; 94 (3): 258–260. DOI: 10.1016/s0035-9203(00)90313-4.
- Rosenzvit M. C., Zhang L. H., Kamenetzky L., Canova S. G., Guarnera E. A., McManus D. P. Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitology*. 1999; 118 (Pt. 5): 523–530. DOI: 10.1017/s0031182099004035.
- Mazzotti L. Encuesta sobre la frecuencia del quiste hidatídico en México. *Rev. Inst. Salubr. Enfer. Trop.* 1959; 19: 309–316.
- Tashani O. A., Zhang L. H., Boufana B., Jegi A., McManus D. P. Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2002; 96 (4): 369–381. DOI: 10.1179/000349802125000952.
- Eckert J., Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17 (1): 107–135. DOI: 10.1128/CMR.17.1.107-135.2004.
- Ammann R. W., Eckert J. Cestodes: *Echinococcus*. *Gastroenterology Clinics of North America*. 1996; 25 (3): 655–689. DOI: 10.1016/s0889-8553(05)70268-5.
- Gemmell M. A., Varela-Diaz V. M. Hydatidosis/Echinococcosis. Review of Programs for Control up to 1974. *Series of Scientific and Technical Monographs. C.P.Z. No. 8*. Buenos Aires: Pan-American Center for Zoonoses, Pan-American Health Organization; 1980.
- Thompson R. C., McManus D. P. Aetiology: parasites and life-cycles. In: *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern*. Ed. by J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, Z. S. Pawlowski. Paris: WHO/OIE; 2001; 1–19. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42427/929044522X.pdf?sequence=1>.
- Бессонов А. С. Цистный эхинококкоз и гидатидоз. М.: Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К. И. Скрябина; 2007. 672 с. eLIBRARY ID: 27285847.
- Биттиров А. М., Кабардиев С. Ш., Пежева М. Х., Карпущенко К. А. Устойчивость инвазионных элементов цестоды *Taenia hydatigena* Pallas, 1766 во внешней среде в условиях предгорной зоны Кабардино-Балкарской Республики. *Ветеринария и кормление*. 2015; 6: 8–10. eLIBRARY ID: 25039221.

REFERENCES

- Baikov V. S. Epizootologicheskaya kharakteristika ekhinokokkoza dikikh psovyykh v usloviyakh Krasnodarskogo kraya = Epizootological characteristics of echinococcosis of wild canines in the Krasnodar Krai. *Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami: materialy dokladov nauchnoy konferentsii Vsesoyuznogo obshchestva gel'mintologov = Theory and practice of combating parasitic diseases: materials of the reports of the scientific conference of the All-Union Society of Helminthologists*. Moscow: VIGIS. 1999; 148–150. (in Russ.)
- Bittirov A. M. Parasitic zoonoses as a global and local problem of sanitation and hygiene over the world and in the Russian Federation. *Hygiene and Sanitation*. 2018; 97 (3): 208–212. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-3-208-212. (in Russ.)
- Blokhina S. V. Rasprostraneniye ekhinokokkoza u sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh v Omskoi oblasti = The spread of echinococcosis in farm animals in the Omsk Oblast. *Trudy Vserossiyskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta veterinarnoy entomologii i arakhnologii = Proceedings of the All-Russian Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology*. Tyumen; 2007; 49: 47–53. (in Russ.)
- World Health Organization. Echinococcosis. March 2020. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>.
- Sorokin V. V., Kolesnikov V. I. Rasprostraneniye ekhinokokkoza v Stavropol'skom krae = The spread of echinococcosis in the Stavropol Krai. *Sbornik nauchnykh trudov Stavropol'skogo nauchno-issledovatel'skogo instituta zhivotnovodstva i kormoproizvodstva = Collection of scientific papers of the Stavropol Research Institute of Animal Breeding and Forage Production*. 2010; 3 (1): 129–131. eLIBRARY ID: 16452642. (in Russ.)

6. Gorohov V. V., Samoylovskaya N. A., Peshkov R. A. Forecast of epizootic situation on main helminthosis in Russian Federation for the year 2014. *Russian Journal of Parasitology*. 2014; 2: 32–33. (in Russ.)
7. Guzeyeva T. M. The incidence of parasitic diseases in the Russian Federation and tasks under service reorganization. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2008; 1: 3–11. eLIBRARY ID: 10333863. (in Russ.)
8. Kabardiev S. Sh., Bittirov A. M., Pezheva M. Kh., Karpuschenko K. A. Helminthofauna classa *Cestoda* and its species combinations in korskak Caspian lowland Dagestan. *Veterinaria i kormlenie*. 2015; 6: 6–8. eLIBRARY ID: 25039220. (in Russ.)
9. Romanenko N. A., Podoprigora G. I., Chistyakov D. A., Akimova R. F., Novosil'tsev G. I., Darchenkova N. N., et al. Problema ekhinokokkozov v Rossiiskoi Federatsii = The problem of echinococcosis in the Russian Federation. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1994; 6: 43–45. (in Russ.)
10. Kovalev N. G., Nazarova E. O., Shamraeva G. V., Pugacheva O. N., Vafin A. Z., Sletkov N. A., et al. Human and animal echinococcosis in the Stavropol territory. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2003; 3: 47–48. eLIBRARY ID: 32295759. (in Russ.)
11. Shamkhalov V. M. Ekologiya vobzuditelei ekhinokokkoza, tsenuroza, tenuikol'nogo tsistitserkoza zhivotnykh, epizootologiya etikh zabolevaniy i mery bor'by v yugo-vostochnoi zone Severnogo Kavkaza: dis. ... d-r vet. nauk = Ecology of causative agents of echinococcosis, coenurosis, tenuicol cysticercosis of animals, epizootology of these diseases and control measures in the southeastern zone of the North Caucasus: dis. ... Dr. Vet. Sciences. Moscow; 1988. 508 p. (in Russ.)
12. Bittirov A. M., Kagermazov Ts. B., Kalabekov A. A., El'darova L. Kh., Musaev Z. G. Commonality and the number of species of helminths of humans and animals in the North Caucasus. *Agrarnaya Rossiya*. 2015; 12: 40–41. DOI: 10.30906/1999-5636-2015-12-40-41. (in Russ.)
13. Jenkins D. J. *Echinococcus* in Australia: The role of wildlife in transmission, with particular reference to South-Eastern Australia. In: *Cestode Zoonoses: Echinococcosis and Cysticercosis – An Emergent and Global Problem*. Ed. by P. Craig, Z. Pawlowski. IOS Press; 2002; 327–332.
14. Macpherson C. N. L., Wachira T. W. M. Cystic echinococcosis in Africa south of the Sahara. In: *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and Middle Eastern Countries with special reference to Morocco*. Eds. F. L. Andersen, H. Ouhelli, M. Kachani. Provo: Brigham Young University Print Services; 1997; 245–277.
15. Macpherson C. N. L. Epidemiology of *Echinococcus granulosus* in transhumant situations. In: *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern*. Ed. by J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, Z. S. Pawlowski. Paris: WHO/OIE; 2001; 156–163. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42427/929044522X.pdf?sequence=1>.
16. Rausch R. L. Life cycle patterns and geographic distribution of *Echinococcus* species. In: *Echinococcus and hydatid disease*. Eds. R. C. A. Thompson, A. J. Lymbery. Wallingford: CAB International; 1995; 88–134.
17. Rausch R. L., D'Alessandro A., Rausch V. R. Characteristics of the larval *Echinococcus vogeli* Rausch and Bernstein, 1972 in the natural intermediate host, the paca, *Cuniculus paca* L. (Rodentia: *Dasyproctidae*). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1981; 30 (5): 1043–1052. DOI: 10.4269/ajtmh.1981.30.1043.
18. Zhang L. H., Joshi D. D., McManus D. P. Three genotypes of *Echinococcus granulosus* identified in Nepal using mitochondrial DNA markers. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2000; 94 (3): 258–260. DOI: 10.1016/S0035-9203(00)90313-4.
19. Rosenzvit M. C., Zhang L. H., Kamenetzky L., Canova S. G., Guarnera E. A., McManus D. P. Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitology*. 1999; 118 (Pt. 5): 523–530. DOI: 10.1017/S0031182099004035.
20. Mazzotti L. Encuesta sobre la frecuencia del quiste hidatídico en México. *Rev. Inst. Salubr. Enfer. Trop.* 1959; 19: 309–316. (in Spanish)
21. Tashani O. A., Zhang L. H., Boufana B., Jegi A., McManus D. P. Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2002; 96 (4): 369–381. DOI: 10.1179/000349802125000952.
22. Eckert J., Deplazes P. Biological, epidemiological, and clinical aspects of echinococcosis, a zoonosis of increasing concern. *Clin. Microbiol. Rev.* 2004; 17 (1): 107–135. DOI: 10.1128/CMR.17.1.107-135.2004.
23. Ammann R. W., Eckert J. Cestodes: *Echinococcus*. *Gastroenterology Clinics of North America*. 1996; 25 (3): 655–689. DOI: 10.1016/S0889-8553(05)70268-5.
24. Gemmell M. A., Varela-Diaz V. M. Hydatidosis/Echinococcosis. Review of Programs for Control up to 1974. *Series of Scientific and Technical Monographs. C.P.Z. No. 8*. Buenos Aires: Pan-American Center for Zoonoses, Pan-American Health Organization; 1980.
25. Thompson R. C., McManus D. P. Aetiology: parasites and life-cycles. In: *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern*. Ed. by J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, Z. S. Pawlowski. Paris: WHO/OIE; 2001; 1–19. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42427/929044522X.pdf?sequence=1>.
26. Bessonov A. S. Tsistnyi ekhinokokkoz i gidatidoz = Cystic echinococcosis and hydatidosis. Moscow: Vserossiiskii nauchno-issledovatel'skii institut fundamental'noi i prikladnoi parazitologii zhivotnykh i rastenii im. K. I. Skryabina; 2007. 672 p. eLIBRARY ID: 27285847. (in Russ.)
27. Bittirov A. M., Kabardiev S. Sh., Pezheva M. Kh., Karpuschenko K. A. Stability invasive elements cestodes *Taenia hydatigena* Pallas, 1766 in the external environment in the conditions of a foothill zone of the Kabardino-Balkar Republic. *Veterinaria i kormlenie*. 2015; 6: 8–10. eLIBRARY ID: 25039221. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 24.05.2021

Поступила после рецензирования / Revised 12.07.2021

Принята к публикации / Accepted 17.09.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Кабардиев Садрутдин Шамшитович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Биттиров Анатолий Мурашевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Айгубова Сабина Анатольевна, научный сотрудник лаборатории коллективного пользования Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Гюляхмедова Наймат Хункеровна, научный сотрудник лаборатории коллективного пользования Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Sadrutdin Sh. Kabardiev, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Head of the Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.

Anatoly M. Bittirov, Doctor of Science (Biology), Chief Researcher, Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.

Sabina A. Aigubova, Researcher, Laboratory of Collective Use, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.

Naymat Kh. Gyulakhmedova, Researcher, Laboratory of Collective Use, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.



Генотипирование *Staphylococcus aureus*, выделенного у низших приматов, на основе полиморфизма коагулазного гена и генов комплекса *agr*

В. А. Калашникова

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (ФГБНУ «НИИ МП»), г. Сочи, Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-1574-8674>, e-mail: vikky.aw@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) – патогенный микроорганизм, вызывающий большое количество заболеваний у человека и животных. Проведено много исследований по генотипированию *Staphylococcus aureus*, выделенных у людей и при маститах у коров, но данных по типированию *Staphylococcus aureus*, обнаруженного у обезьян, в зарубежной литературе не найдено. Однако инфекции стафилококковой природы у приматов распространены широко. В статье представлены результаты молекулярно-генетического изучения золотистых стафилококков, изолированных от низших обезьян, на основе типирования коагулазного гена и полиморфного локуса *agr*, являющегося регулятором экспрессии генов патогенности. Проведено исследование структуры коагулазного гена (*coa*) и полиморфных типов регуляторного гена (*agr*) у 145 изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных от обезьян разных видов. Получены одиночные фрагменты коагулазного гена четырех размеров: 600, 750, 800 и 900 п. н. По результатам рестрикции эндонуклеазой *AluI* изученные золотистые стафилококки классифицированы на семь различных *coa*-типов. Наиболее часто обнаруживали VII генотип (31,7%), реже – II генотип коагулазного гена (9,7%). Для каждого изолята *Staphylococcus aureus* характерен определенный профиль рестрикции коагулазного гена, следовательно, среди обезьян питомника циркулирует как минимум семь штаммов золотистого стафилококка. При этом стафилококки, содержащие коагулазный ген VII генотипа, являются инвазивными, так как выделены из различных органов и гноя, а также фекалий и носовой полости животных. Анализ результатов исследования показал, что между разными видами обезьян возможна передача бактерий данного вида. Установлено, что, в отличие от обнаруженных у людей изолятов *Staphylococcus aureus*, в геноме которых преобладает *agrI*, у изученных в настоящей работе изолятов превалирует *agrIV* (59,3%). Группы *agrII* и *agrIII* детектированы у 5,5 и 2,1% изолятов соответственно.

Ключевые слова: обезьяны, *Staphylococcus aureus*, коагулазный ген, регуляторный ген, группы комплекса *agr*

Благодарности: Работа выполнена за счет средств госбюджета, входит в раздел научных исследований по инфекционной патологии обезьян «Генетическое разнообразие и молекулярная характеристика *Staphylococcus aureus*, изолированных от обезьян».

Для цитирования: Калашникова В. А. Генотипирование *Staphylococcus aureus*, выделенного у низших приматов, на основе полиморфизма коагулазного гена и генов комплекса *agr*. Ветеринария сегодня. 2021; 10 (4): 335–341. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-335-341.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Калашникова Виктория Алексеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ МП», 354376, Россия, Краснодарский край, г. Сочи, с. Веселое, ул. Мира, 177, e-mail: vikky.aw@gmail.com.

Coagulase gene and *agr* complex polymorphism-based genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from non-human primates

V. A. Kalashnikova

FSBSI "Research Institute of Medical Primatology" (FSBSI "SRI MP"), Sochi, Russia;
<https://orcid.org/0000-0002-1574-8674>, e-mail: vikky.aw@gmail.com

SUMMARY

Staphylococcus aureus is a pathogenic microorganism causing a great number of diseases in humans and animals. Many researches on genotyping *Staphylococcus aureus* isolated from humans and mastitis affected cows are performed, but no foreign reports on typing of *Staphylococcus aureus* detected in monkeys have been found. *Staphylococcus*-induced infections are however widely spread in primates. The paper demonstrates results of molecular and genetic examination of *Staphylococcus aureus* isolated from non-human primates. The examination was based on typing of coagulase gene and polymorphic locus of *agr* gene that regulates expression of pathogenicity-associated genes. Structures of coagulase gene (*coa*) and polymorphic types of regulatory gene (*agr*) were studied in 145 *Staphylococcus*

aureus isolates recovered from various monkey species. The studies resulted in singular coagulase gene fragments of four dimensions: 600, 750, 800 and 900 bps. Following *AluI* endonuclease restriction results *Staphylococcus aureus* was classified in seven different *coa*-types. Coagulase gene of genotype VII predominated (31.7%), genotype II was detected less frequently (9.7%). Each *Staphylococcus aureus* isolate is specified by a definite coagulase gene restriction profile; therefore, at least seven *Staphylococcus aureus* strains are currently circulating in the monkeys in the monkey facilities. Herewith, those staphylococci that bear genotype VII coagulase gene are invasive as they are isolated from various organs and pus as well as from feces and nasal cavities of the animals. Analysis of the study results demonstrated that bacteria of this species could be transmitted between different monkey species. Apart from human *Staphylococcus aureus*, in whose genome *agrI* prevails, *agrIV* prevailed in the isolates outlined in this paper (59.3%); *agrII* and *agrIII* were detected in 5.5 and 2.1% of the isolates, respectively.

Keywords: monkeys, *Staphylococcus aureus*, coagulase gene, regulatory gene, *agr* groups

Acknowledgements: The work was funded by the federal government, and it is a part of the research activities aimed at the examination of the infectious pathology of monkeys "Genetic diversity and molecular specification of *Staphylococcus aureus* isolated from monkeys".

For citation: Kalashnikova V. A. Coagulase gene and *agr* complex polymorphism-based genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from non-human primates. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 335–341. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-335-341.

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

For correspondence: Victoria A. Kalashnikova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, FSBSI "SRI MP", 354376, Russia, Krasnodar Krai, Sochi, s. Veseloye, ul. Mira, 177, e-mail: vikky.aw@gmail.com

ВВЕДЕНИЕ

Золотистый стафилококк (*Staphylococcus aureus*) является причиной заболеваний людей и животных, включая доброкачественные инфекции кожи и мягких тканей [1, 2]. Опасность патогена заключается в способности вызывать тяжелые инфекции, вплоть до летальных случаев (пневмония, сепсис и др.). Это является результатом действия большого количества продуцируемых им факторов вирулентности, таких как стафилокиназа, адгезины, гемолизины, лейкоцидины, энтеротоксины и др. [2, 3], экспрессия которых регулируется специальной системой – дополнительным регуляторным геном *agr* [2, 4–7]. Хотя этот локус является консервативным, но состоит из полиморфного гипервариабельного фрагмента, который используется для классификации штаммов *St. aureus* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в одну из четырех групп (полиморфных типов) – *agrI*, *agrII*, *agrIII*, *agrIV* [4, 8]. Некоторые авторы утверждают, что *agr*-группы влияют на вирулентность штаммов и прогрессирование заболевания [9].

В конце прошлого века при исследовании различных патогенных микроорганизмов стали применяться молекулярные методы типирования, которые позволяют выявлять эпидемиологически значимые штаммы. С помощью этих методов были обнаружены генетические детерминанты вирулентности золотистого стафилококка и установлено, что данный микроорганизм принадлежит к гетерогенным и полиморфным видам, у которых многие гены патогенности присутствуют в хромосоме в составе «островков патогенности», стафилококковых хромосомных кассет и профагов. У разных штаммов эти генетические элементы существуют в виде аллельных форм и характеризуются различной степенью мобильности [4]. Горизонтальный перенос генов, расположенных на мобильных генетических элементах, вызывает генетическое разнообразие внутри вида *St. aureus*.

Одним из важнейших факторов вирулентности *St. aureus* является коагулаза – внеклеточный продукт штаммов, который стимулирует протромбин, что приводит к свертыванию крови. Ген коагулазы *coa* генетически изменчив, т. е. полиморфен [10, 11]. Типирование коагулазы было разработано как один из молекулярных методов, применяющихся для идентификации или дифференциации представителей *St. aureus* [12, 13]. Амплификация гена коагулазы считается простым и точным способом типирования *St. aureus*, выделенных из различных источников и дающих важную информацию о генетическом фоне изолятов [14, 15]. Этот метод основан на выявлении изменчивости и полиморфизма, возникающих в результате мутаций на 3'-конце коагулазного гена, содержащего tandemные повторы длиной в 81 пару нуклеотидов (п. н.), и меняющих размер гена [16–19]. Фрагменты ДНК, соответствующие вариабельной области гена коагулазы, амплифицируются в ПЦР с последующим расщеплением ферментами (эндонуклеазами) рестрикции и анализом картины различных длин рестрикционных фрагментов или паттернов (ПЦР-ПДРФ). На основании данных о количестве и размере этих фрагментов дифференцируют изоляты. Таким образом, изучение полиморфизма таких генов вирулентности *St. aureus*, как коагулазный и регуляторный, может иметь важное диагностическое значение [12, 20]. Генотипы коагулазного гена хорошо изучены у золотистых стафилококков, выделенных от людей [21]. Также много работ посвящено исследованию полиморфизма *coa*-гена представителей вида *St. aureus*, выделенных при маститах у коров и из молока [1, 6, 11, 15, 22–25]. Эти исследования показали, что разные генотипы *St. aureus* могут быть выявлены не только у коров, больных маститом в разных географических районах, но даже у коров в одном стаде [6]. Из литературных данных известно, что возможна передача штаммов между людьми и различными животными, включая обезьян [24]. Связанные с человеком штам-

мы *St. aureus* колонизируют и заражают низших обезьян в неволе и дикой природе [26, 27]. Считается, что приобретение и утрата генов, расположенных на мобильных генетических элементах, является основным фактором адаптации микроба после передачи между хозяевами [26].

Сведений по исследованию полиморфизма коагулазного гена и аллельных вариантов регуляторного гена у *St. aureus*, выделенных от обезьян разных видов, в зарубежных научных публикациях не обнаружено.

Цель настоящей работы – провести генотипирование изолятов *St. aureus*, выделенных от обезьян разных видов, на основе полиморфизма коагулазного гена и полиморфных типов регуляторного гена.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучено 145 изолятов *St. aureus*, полученных при бактериологическом обследовании 33 живых и 100 погибших обезьян разных видов (макак-резус – 51, макак яванский – 33, павиан гамадрил – 33, павиан анубис – 9, мартышка зеленая – 3, макак лапундер – 3, капуцин белоплечий – 1), содержащихся в условиях неволи в Адлерском питомнике. Обследованные обезьяны были обоих полов (♀ – 69, ♂ – 64) и разных возрастов (от 0 сут до 35 лет). Для исследования у живых обезьян были взяты стерильными тампонами мазки со слизистой носа ($n = 11$), зева ($n = 1$), из уретры ($n = 1$), пробы гноя из раны ($n = 2$). Стерильными ректальными тампонами из прямой кишки были взяты пробы фекалий ($n = 18$). У погибших животных материалом для исследования служили кусочки органов и биожидкости, полученные при патолого-анатомическом вскрытии (легкие – 66, печень – 11, селезенка – 12, почка – 6, лимфоузлы – 9, матка – 1, слепая кишка – 4, гной – 2, биологическая жидкость – 1).

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.

Посев материала проводили на желточно-солевой агар (ЖСА) и 5%-й кровяной агар и инкубировали в термостате при 37 °C в течение 24–48 ч. Выросшие колонии стафилококков изучали морфологически (на основании характеристики колоний, их пигментации, окраски по Граму) и биохимически, учитывая лецитиназную активность на ЖСА, гемолитическую активность на кровяном агаре и плазмокоагуляцию. Видовую идентификацию проводили с помощью коммерческих тест-систем «Мультимикротесты для биохимической идентификации стафилококков (ММТ С)» (ООО НПО «Иммунотэк», Россия). Для дальнейшего молекулярно-генетического исследования изоляты золотистых стафилококков хранили при минус 20 °C.

Экстракцию ДНК и *agr*-типирование проводили, как описано ранее [28]. Детекцию коагулазного гена осуществляли согласно методике, описанной в предыдущей работе [29]. Структурный полиморфизм коагулазного гена исследовали по J. V. Hookey et al. [30] с использованием эндонуклеазы рестрикции *AluI* (New

England BioLabs, США) по прилагаемому протоколу: 5 мкл 10× NEBuffer, 34 мкл деионизированной воды, 10 мкл ДНК, 1 мкл *AluI*. Смесь инкубировали при температуре 37 °C в течение 1 ч. Дальнейший анализ проводили на основе определения размеров полученных ампликонов, количества и протяженности фрагментов рестрикции. *Coa*-ПЦР-ПДРФ-паттерны представляли в виде цифрового кода: первое число (до косой черты) соответствует размеру ПЦР-продукта, а затем (после косой черты) указаны размеры рестрикционных *AluI*-фрагментов.

Визуализацию продуктов амплификации осуществляли в Трис-ацетатном буфере (ТАЕ) с использованием 2%-го агарозного геля (Sigma, США), окрашенного раствором бромистого этидия (0,5 мкг/мл), в градиенте напряжения 130 В в течение 50 мин (электрофорез продуктов рестрикции проходил при 80 В в течение 1 ч 35 мин). По окончании электрофореза результаты просматривали в ультрафиолетовом свете на транс-иллюминаторе (длина волны 254 нм). Размер ампликонов определяли, используя ДНК-маркер 100–1200 п. н. (Evrogen, Россия). Результаты реакции фотографировали в ультрафиолетовом свете.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам амплификации коагулазного гена выделено четыре типа ампликона (табл. 1). Как видно из таблицы, у большинства изолятов (46%) был обнаружен коагулазный ген четвертого типа размером 900 п. н.

Использование эндонуклеазы *AluI* позволило выявить 7 различных профилей рестрикции коагулазного гена (генотипов) у изученных изолятов, давших количество фрагментов рестрикции от 1 до 3 и имеющих размер от 80 до 750 п. н. (табл. 2).

При этом для изолятов каждой группы была характерна одинаковая длина ампликонов и специфические сайты рестрикции. Отсутствие различий в размерах ампликонов указывает на отсутствие отличий в числе нуклеотидных повторов, а одинаковые сайты рестрикции – на структурное сходство этих повторов. Большинство изолятов *St. aureus* относились к VII типу рестрикции (31,7%), с наименьшей частотой выявлен VI генотип коагулазного гена (2,1%).

Следует отметить, что рестрикционный профиль 600/600 п. н. (I генотип *coa*-гена) с высокой частотой встречался у *St. aureus*, выделенных от обезьян рода павианов, – у 25 из 42 исследованных изолятов (рис.).

Таблица 1
Характеристика ПЦР-продуктов (ампликонов) коагулазного гена *St. aureus*, выделенных от обезьян

Table 1
Specification of coagulase gene PCR-products (amplicons) of *St. aureus* isolated from monkeys

coa-тип	Длина ПЦР-продукта (~ число пар оснований)	Число изолятов (%)	Число ПЦР-паттернов
1	600	42 (29%)	1
2	750	17 (12%)	1
3	800	19 (13%)	3
4	900	67 (46%)	3

Таблица 2
Частота детекции генотипов коагулазного гена и *agr*-типов *St. aureus*, выделенных от обезьян

Table 2
Frequency of monkey's *St. aureus* coagulase gene and *agr* detection by genotypes and types

Генотип <i>coa</i> -гена (профиль рестрикции)	<i>coa</i> -ПЦР-ПДРФ-паттерны, п. н.	<i>agr</i> -тип (количество)	Всего
I	600/600	<i>agrI</i> – 6 <i>agrIV</i> – 22	28 (19,3%)
II	600/300	<i>agrI</i> – 11 <i>agrII</i> – 2 <i>agrIV</i> – 1	14 (9,7%)
III	750/750	<i>agrI</i> – 5 <i>agrII</i> – 1 <i>agrIV</i> – 11	17 (11,7%)
IV	800/400-220-80	<i>agrI</i> – 4 <i>agrIV</i> – 15	19 (13,1%)
V	900/220-180-80	<i>agrI</i> – 8 <i>agrII</i> – 2 <i>agrIII</i> – 1 <i>agrIV</i> – 7	18 (12,4%)
VI	900/450-220-80	<i>agrI</i> – 3	3 (2,1%)
VII	900/550-220-80	<i>agrI</i> – 11 <i>agrII</i> – 3 <i>agrIII</i> – 2 <i>agrIV</i> – 30	46 (31,7%)

Обнаружение коагулазного гена с такой структурой у двух макаков и капуцина можно объяснить тем, что эти животные, возможно, содержались в изоляторе совместно с павианами (больными или носителями *St. aureus*), в результате чего произошло заражение данным изолятом. Таким образом, можно предположить, что в изоляторах происходит циркуляция изолятов золотистого стафилококка от одних обезьян к другим.

Паттерн 900/550-220-80 (VII генотип) чаще детектировали у *St. aureus*, выделенных от макаков, – у 36

из 87 исследованных изолятов. Только у трех макаков-резусов обнаружен коагулазный ген, имеющий паттерн 900/450-220-80 (VI генотип *coa*-гена). Так как для каждого изолята характерен свой профиль рестрикции коагулазного гена, то, согласно полученным данным, у содержащихся в Адлерском питомнике обезьян циркулирует как минимум 7 изолятов *St. aureus*.

Штамм *St. aureus*, содержащий *coa*-ген VII генотипа (900/550-220-80), является инвазивным, так как выделен из всех органов и гноя (табл. 3).

С другой стороны, изоляты *St. aureus*, обнаруженные в фекалиях и носовой полости у клинически здоровых обезьян, преимущественно имеют I генотип коагулазного гена (паттерн 600/600). Из легких погибших обезьян с диагнозом «пневмония» чаще выделяли *St. aureus* с III и VII генотипом коагулазного гена. По сообщению некоторых авторов, существует предположение о том, что золотистые стафилококки с преобладающим генотипом коагулазы более устойчивы к действию нейтрофилов, чем с редкими генотипами [23].

Ag-типирование *St. aureus* показало, что более чем у половины изолятов выявлен *agr* группы IV (59,3%), редко детектированы *agr* групп II и III (табл. 4).

Как видно из таблицы, *agrIII* обнаружен у двух изолятов *St. aureus*, выделенных из печени, и у одного изолята – из селезенки. Ни у одного из 66 золотистых стафилококков, выделенных из легких обезьян, не детектирована третья группа регуляторного гена, а у изолятов, обнаруженных в печени и селезенке, не выявлена *agrII*.

Частота детекции генов комплекса *agr* у изолятов *St. aureus* разных типов коагулазного гена представлена в таблице 2. Анализ *agr*-типирования показал, что у изолятов VII типа *coa*-гена выявлена только первая группа регуляторного гена. У всех остальных стафилококков превалирует четвертая группа *agr*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование метода типирования коагулазного гена позволило обнаружить различные генотипы среди *St. aureus*, выделенных от обезьян разных видов. Это подтверждает, что золотистый стафилококк имеет определенную гетерогенность в 3'-концевой области *coa*-гена. В ходе проведенного исследования обнаружено четыре типа коагулазного гена протяженностью от 600 до 900 п. н. и семь профилей его рестрикции, длина фрагментов которых варьировала от 80 до 550 п. н. Наиболее распространенным был 4-й тип коагулазного гена, имеющий длину 900 п. н., детектированный у 46% изолятов и VII генотип рестрикции *coa*-гена (паттерн 900/550-220-80 п. н.), выявленный у 31,7% *St. aureus*. Полученные результаты указывают на то, что пневмонию у обезьян вызывают штаммы золотистого стафилококка, имеющие широкий полиморфизм коагулазного гена, однако большинство изолятов *St. aureus*, выделенных из легких (19 из 66), были отнесены к VII профилю рестрикции коагулазного гена (28,8%). На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что среди обезьян, содержащихся в питомнике, циркулирует как минимум 7 изолятов *St. aureus*, которые способны вызывать пневмонию, могут быть в составе сопутствующей микрофлоры при кишечных заболеваниях как в кишечнике, так и во внутренних органах, а также колонизировать носовую полость у клинически здоровых животных.

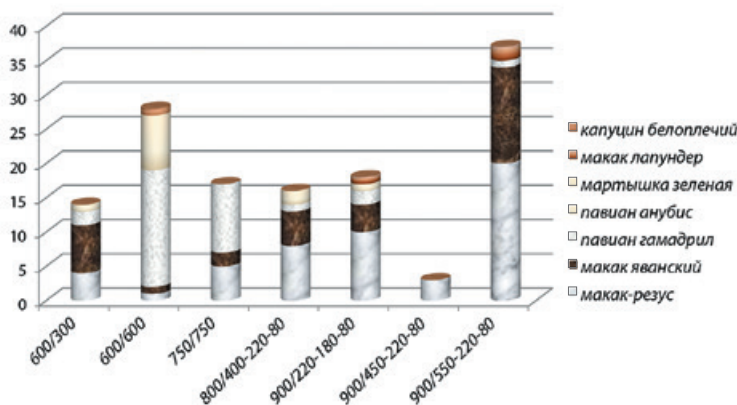


Рис. Профили рестрикции коагулазного гена *St. aureus*, выделенного у разных видов обезьян

Fig. Coagulase gene restriction profiles of *St. aureus* isolated from different monkey species

Таблица 3

Типы коагулазного гена у *St. aureus*, выделенных из биоматериала обезьян

Table 3

Types of coagulase gene of *St. aureus* isolated from biomaterials of monkeys

Тип coa-гена	Материал для исследования (количество)								
	легкое (n = 66)	печень (n = 11)	почка (n = 6)	селезенка (n = 12)	лимфоузел (n = 9)	слепая кишка (n = 4)	гной (n = 4)	фекалии (n = 18)	слизистая оболочка носа (n = 11)
I	8	1	1	0	0	1	1	9	5
II	11	1	0	0	0	0	1	1	0
III	12	1	0	1	0	2	0	0	1
IV	8	1	1	3	2	0	0	3	0
V	8	1	0	1	2	0	0	3	3
VI	0	1	1	1	0	0	0	0	0
VII	19	5	3	6	5	1	2	2	2

Таблица 4

Группы регуляторного гена, обнаруженные у *St. aureus*, выделенных из различного биоматериала обезьян

Table 4

Regulatory gene groups identified in *St. aureus* isolated from different biomaterials of monkeys

Материал для исследования	agr-тип, количество (%)				Всего
	I	II	III	IV	
Легкое	22 (33,3%)	3 (4,6%)	0	41 (62,1%)	66
Печень	4 (36,4%)	0	2 (18,2%)	5 (45,4%)	11
Почка	2 (33,3%)	0	0	4 (66,7%)	6
Селезенка	4 (33,3%)	0	1 (8,3%)	7 (58,4%)	12
Лимфоузел	4 (44,5%)	0	0	5 (55,6%)	9
Матка	0	0	0	1	1
Гной	1	2	0	1	4
Биологическая жидкость	0	0	0	1	1
Слепой кишечник	2	1	0	1	4
Фекалии	5 (27,7%)	1 (5,6%)	0	12 (66,7%)	18
Слизистая оболочка носа	4	1	0	6	11
Зев	0	0	0	1	1
Уретра	0	0	0	1	1
Всего	48 (33,1%)	8 (5,5%)	3 (2,1%)	86 (59,3%)	145

Проведенное *agr*-типирование показало, что у *St. aureus*, выделенных от обезьян, превалирует IV группа регуляторного гена, в то время как у изолятов *St. aureus*, обнаруженных у людей, преобладает *agrI*, а у золотистых стафилококков, выделенных от больных маститом коров, преобладающими являются *agrI* и *agrIII* [4, 6, 25]. Распространение других детерминант вирулентности изолятов *St. aureus* требует дальнейшего изучения, а также секвенирования вышеозначенных генов, что позволит выявить принадлежность к клональным линиям золотистого стафилококка, циркули-

рующего у обезьян, и сравнить с известными данными, полученными при исследовании штаммов, обнаруженных у людей и других животных, оценить эпизоотическую ситуацию по данному бактериальному патогену в питомнике обезьян.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Sharma V., Sharma S., Dahiya D. K., Khan A., Mathur M., Sharma A. Coagulase gene polymorphism, enterotoxigenicity, biofilm production, and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine raw milk in North West India. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2017; 16 (1):65. DOI: 10.1186/s12941-017-0242-9.

2. Adame-Gómez R., Castro-Alarcón N., Vences-Velázquez A., Toribio-Jiménez J., Pérez-Valdespino A., Leyva-Vázquez M.-A., et al. Genetic diversity and virulence factors of *S. aureus* isolated from food, humans, and animals. *Int. J. Microbiol.* 2020; 2020:1048097. DOI: 10.1155/2020/1048097.
3. Javid F., Taku A., Bhat M. A., Badroo G. A., Mudasil M., Sofi T. A. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on coagulase gene. *Vet. World.* 2018; 11 (4): 423–430. DOI: 10.14202/vetworld.2018.423-430.
4. Гостев В. В., Гончаров А. Е., Грачева М. А., Сидоренко С. В. Распространение генов комплекса Immune evasion cluster и других факторов вирулентности у *Staphylococcus aureus*. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2013; 15 (4): 270–278. Режим доступа: <https://cmac-journal.ru/publication/2013/4/cmhc-2013-t15-n4-p270>.
5. Mullarky I. K., Su C., Frieze N., Park Y. H., Sordillo L. M. *Staphylococcus aureus* agr genotypes with enterotoxin production capabilities can resist neutrophil bactericidal activity. *Infect. Immun.* 2001; 69 (1): 45–51. DOI: 10.1128/IAI.69.1.45–51.2001.
6. Kroning I. S., Iglesias M. A., Mendonça K. S., Lopes G. V., Silva W. P. Presence of classical enterotoxin genes, agr typing, antimicrobial resistance, and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* from milk of cows with mastitis in Southern Brazil. *J. Food Prot.* 2018; 81 (5): 738–742. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-17-436.
7. Gomes-Fernandes M., Laabei M., Pagan N., Hidalgo J., Molinos S., Villar Hernandez R., et al. Accessory gene regulator (Agr) functionality in *Staphylococcus aureus* derived from lower respiratory tract infections. *PLoS One.* 2017; 12 (4): e0175552. DOI: 10.1371/journal.pone.0175552.
8. de Almeida L. M., de Almeida M. Z., de Mendonça C. L., Mamizuka E. M. Comparative analysis of agr groups and virulence genes among subclinical and clinical mastitis *Staphylococcus aureus* isolates from sheep flocks of the Northeast of Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 2013; 44 (2): 493–498. DOI: 10.1590/S1517-83822013000200026.
9. Jarraud S., Mougil C., Thioulouse J., Lina G., Meugnier H., Forey F., et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect. Immun.* 2002; 70 (2): 631–641. DOI: 10.1128/IAI.70.2.631-641.2002.
10. Khoshkaram-Roodmajani H., Sarvari J., Bazargani A., Kandevar-Ghahraman M. R., Nazari-Alam A., Motamedifar M. Molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from Shiraz teaching hospitals by PCR-RFLP of coagulase gene. *Iran J. Microbiol.* 2014; 6 (4): 246–252. PMID: 25802708; PMCID: PMC4367941.
11. Karahan M., Cetinkaya B. Coagulase gene polymorphisms detected by PCR in *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in Turkey. *Vet. J.* 2007; 174 (2): 428–431. DOI: 10.1016/j.tvjl.2006.05.016.
12. Salehzadeh A., Zamani H., Langeroudi M. K., Mirzaie A. Molecular typing of nosocomial *Staphylococcus aureus* strains associated to biofilm based on the coagulase and protein A gene polymorphisms. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2016; 19 (12): 1325–1330. DOI: 10.22038/ijbms.2016.7919.
13. Ibrahim O. M. A., Bilal N. E., Azoz M. E. H., Eltahir H. B. Coagulase gene polymorphisms of *Staphylococcus aureus* isolates from patients at Kosti Teaching Hospital, Sudan. *Access Microbiol.* 2019; 1 (3): e000026. DOI: 10.1099/acmi.0.000026.
14. Абаев И. В., Скрыбин Ю. П., Печерских Э. И., Мицевич И. П., Мицевич Е. В., Коробова О. В. и др. Генотипирование изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных при вспышке эксфолиативного дерматита новорожденных. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014; 16 (1): 70–77. Режим доступа: <https://cmac-journal.ru/publication/2014/1/cmhc-2014-t16-n1-p070>.
15. Su C., Herbelin C., Frieze N., Skardova O., Sordillo L. M. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cattle in different geographical areas. *Epidemiol. Infect.* 1999; 122 (2): 329–336. DOI: 10.1017/s0950268899002228.
16. Carter P. E., Begbie K., Thomson-Carter F. M. Coagulase gene variants associated with distinct populations of *Staphylococcus aureus*. *Epidemiol. Infect.* 2003; 130 (2): 207–219. DOI: 10.1017/s0950268802008038.
17. Al-Ajeily B. A., Al-Shukri M. S. M., Al-Jumaily H. S. Detection of newly defined superantigenic toxin genes and coagulase gene polymorphism in *Staphylococcus aureus* isolates. *Rev. Med. Microbiol.* 2017; 28 (4): 158–163. DOI: 10.1097/RRM.0000000000000114.
18. Abdulghany H. M., Khairy R. M. The frequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase gene polymorphism in Egypt. *Int. J. Bacteriol.* 2014; 2014:680983. DOI: 10.1155/2014/680983.
19. Mohajeri P., Azizkhani S., Farahani A., Norozi B. Genotyping of coa and aroA genes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from nasal samples in Western Iran. *Jundishapur J. Microbiol.* 2016; 9 (1): e26460. DOI: 10.5812/jjm.26460.
20. Grinholc M., Nakonieczna J., Negri A., Rapacka-Zdonczyk A., Motyka A., Fila G., et al. The agr function and polymorphism: impact on *Staphylococcus aureus* susceptibility to photoinactivation. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2013; 129: 100–107. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2013.10.006.
21. Omar N. Y., Ali H. A., Harfoush R. A., El Khayat E. H. Molecular typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates on the basis of protein A and coagulase gene polymorphisms. *Int. J. Microbiol.* 2014; 2014:650328. DOI: 10.1155/2014/650328.
22. Montaz H., Tajbakhsh E., Momeni M. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and sub-clinical bovine mastitis in Isfahan and Chaharmahal va Bakhtiari provinces of Iran. *Comp. Clin. Path.* 2011; 20 (5): 519–522. DOI: 10.1007/s00580-010-1029-y.
23. Rodrigues da Silva E., da Silva N. Coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis in southeastern Brazil. *Can. J. Vet. Res.* 2005; 69 (4): 260–264. PMID: 16479723; PMCID: PMC1250237.
24. Gharibi D., Ghadimipour R., Ghorbanpoor M., Fazlara A. Restriction fragment length polymorphism typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis and dairy products in Ahvaz, Iran, using of digested coagulase gene. *Arch. Razi Inst.* 2019; 74 (3): 303–311. DOI: 10.22092/ari.2017.115900.1159.
25. Rossi B. F., Bonsaglia E. C. R., Castilho I. G., Dantas S. T. A., Salina A., Langoni H., et al. Genotyping of long term persistent *Staphylococcus aureus* in bovine subclinical mastitis. *Microb. Pathog.* 2019; 132: 45–50. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.04.031.
26. Senghore M., Bayliss S. C., Kwambana-Adams B. A., Foster-Nyarko E., Manneh J., Dione M., et al. Transmission of *Staphylococcus aureus* from humans to green monkeys in the Gambia as revealed by whole-genome sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82 (19): 5910–5917. DOI: 10.1128/AEM.01496-16.
27. Калашникова В. А. Пневмонии у обезьян, содержащихся в условиях неволи: частота гибели животных, сезонность заболевания и микробные ассоциации. *Российский ветеринарный журнал*. 2018; 4: 15–18. DOI: 10.32416/article_5bd1c1fb78c823.61694479.
28. Калашникова В. А. Agr-типирование метициллин-чувствительных *Staphylococcus aureus* (MSSA), выделенных у низших приматов. *Ветеринария сегодня*. 2020; 2: 127–131. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-127-131.
29. Калашникова В. А. Молекулярное типирование метициллин-чувствительных *Staphylococcus aureus* (MSSA), изолированных от обезьян, на основе полиморфизма коагулазного гена. *Ветеринария сегодня*. 2019; 3: 57–62. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-57-62.
30. Hookey J. V., Richardson J. F., Cookson B. D. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36 (4): 1083–1089. DOI: 10.1128/JCM.36.4.1083-1089.

REFERENCES

1. Sharma V., Sharma S., Dahiya D. K., Khan A., Mathur M., Sharma A. Coagulase gene polymorphism, enterotoxigenicity, biofilm production, and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine raw milk in North West India. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 2017; 16 (1): 65. DOI: 10.1186/s12941-017-0242-9.
2. Adame-Gómez R., Castro-Alarcón N., Vences-Velázquez A., Toribio-Jiménez J., Pérez-Valdespino A., Leyva-Vázquez M.-A., et al. Genetic diversity and virulence factors of *S. aureus* isolated from food, humans, and animals. *Int. J. Microbiol.* 2020; 2020:1048097. DOI: 10.1155/2020/1048097.
3. Javid F., Taku A., Bhat M. A., Badroo G. A., Mudasil M., Sofi T. A. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on coagulase gene. *Vet. World.* 2018; 11 (4): 423–430. DOI: 10.14202/vetworld.2018.423-430.
4. Gostev V. V., Goncharov A. E., Grachyova M. A., Sidorenko S. V. Distribution of immune evasion cluster genes and genes encoding other virulence factors among *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2013; 15 (4): 270–278. Available at: <https://cmac-journal.ru/publication/2013/4/cmhc-2013-t15-n4-p270>. (in Russ.)
5. Mullarky I. K., Su C., Frieze N., Park Y. H., Sordillo L. M. *Staphylococcus aureus* agr genotypes with enterotoxin production capabilities can resist neutrophil bactericidal activity. *Infect. Immun.* 2001; 69 (1): 45–51. DOI: 10.1128/IAI.69.1.45–51.2001.
6. Kroning I. S., Iglesias M. A., Mendonça K. S., Lopes G. V., Silva W. P. Presence of classical enterotoxin genes, agr typing, antimicrobial resistance, and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* from milk of cows with mastitis in Southern Brazil. *J. Food Prot.* 2018; 81 (5): 738–742. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-17-436.
7. Gomes-Fernandes M., Laabei M., Pagan N., Hidalgo J., Molinos S., Villar Hernandez R., et al. Accessory gene regulator (Agr) functionality in *Staphylococcus aureus* derived from lower respiratory tract infections. *PLoS One.* 2017; 12 (4): e0175552. DOI: 10.1371/journal.pone.0175552.
8. de Almeida L. M., de Almeida M. Z., de Mendonça C. L., Mamizuka E. M. Comparative analysis of agr groups and virulence genes among subclinical and clinical mastitis *Staphylococcus aureus* isolates from sheep flocks of the Northeast of Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 2013; 44 (2): 493–498. DOI: 10.1590/S1517-83822013000200026.

9. Jarraud S., Mougé C., Thioulouse J., Lina G., Meunier H., Forey F., et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect. Immun.* 2002; 70 (2): 631–641. DOI: 10.1128/IAI.70.2.631-641.2002.
10. Khoshkhamranch-Roodmajani H., Sarvari J., Bazargani A., Kande-kar-Ghahraman M. R., Nazari-Alam A., Motamedifar M. Molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* isolates from Shiraz teaching hospitals by PCR-RFLP of coagulase gene. *Iran J. Microbiol.* 2014; 6 (4): 246–252. PMID: 25802708; PMCID: PMC4367941.
11. Karahan M., Cetinkaya B. Coagulase gene polymorphisms detected by PCR in *Staphylococcus aureus* isolated from subclinical bovine mastitis in Turkey. *Vet. J.* 2007; 174 (2): 428–431. DOI: 10.1016/j.tvjl.2006.05.016.
12. Salehzadeh A., Zamani H., Langeroudi M. K., Mirzaie A. Molecular typing of nosocomial *Staphylococcus aureus* strains associated to biofilm based on the coagulase and protein A gene polymorphisms. *Iran J. Basic Med. Sci.* 2016; 19 (12): 1325–1330. DOI: 10.22038/ijbms.2016.7919.
13. Ibrahim O. M. A., Bilal N. E., Azoz M. E. H., Eltahir H. B. Coagulase gene polymorphisms of *Staphylococcus aureus* isolates from patients at Kosti Teaching Hospital, Sudan. *Access Microbiol.* 2019; 1 (3): e000026. DOI: 10.1099/acmi.0.000026.
14. Abaev I. V., Skryabin Yu. P., Petchersky E. I., Mitsevitich I. P., Mitsevitich E. V., Korobova O. V., et al. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolates in outbreak of exfoliative dermatitis in neonates. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2014; 16 (1): 70–77. Available at: <https://cmac-journal.ru/publication/2014/1/cmac-2014-t16-n1-p070>. (in Russ.)
15. Su C., Herbelin C., Frieze N., Skardova O., Sordillo L. M. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cattle in different geographical areas. *Epidemiol. Infect.* 1999; 122 (2): 329–336. DOI: 10.1017/s0950268899002228.
16. Carter P. E., Begbie K., Thomson-Carter F. M. Coagulase gene variants associated with distinct populations of *Staphylococcus aureus*. *Epidemiol. Infect.* 2003; 130 (2): 207–219. DOI: 10.1017/s0950268802008038.
17. Al-Ajealy B. A., Al-Shukri M. S. M., Al-Jumaily H. S. Detection of newly defined superantigenic toxin genes and coagulase gene polymorphism in *Staphylococcus aureus* isolates. *Rev. Med. Microbiol.* 2017; 28 (4): 158–163. DOI: 10.1097/MMR.000000000000114.
18. Abdulghany H. M., Khairy R. M. The frequency of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and coagulase gene polymorphism in Egypt. *Int. J. Bacteriol.* 2014; 2014:680983. DOI: 10.1155/2014/680983.
19. Mohajeri P., Azizkhani S., Farahani A., Norozi B. Genotyping of *coa* and *aroA* genes of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from nasal samples in Western Iran. *Jundishapur J. Microbiol.* 2016; 9 (1): e26460. DOI: 10.5812/jjm.26460.
20. Grinholc M., Nakonieczna J., Negri A., Rapacka-Zdonczyk A., Motyka A., Fila G., et al. The agr function and polymorphism: impact on *Staphylococcus aureus* susceptibility to photoinactivation. *J. Photochem. Photobiol. B.* 2013; 129: 100–107. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2013.10.006.
21. Omar N. Y., Ali H. A., Harfoush R. A., El Khayat E. H. Molecular typing of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates on the basis of protein A and coagulase gene polymorphisms. *Int. J. Microbiol.* 2014; 2014:650328. DOI: 10.1155/2014/650328.
22. Momtaz H., Tajbakhsh E., Rahimi E., Momeni M. Coagulase gene polymorphism of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and sub-clinical bovine mastitis in Isfahan and Chaharmahal va Bakhtiari provinces of Iran. *Comp. Clin. Path.* 2011; 20 (5): 519–522. DOI: 10.1007/s00580-010-1029-y.
23. Rodrigues da Silva E., da Silva N. Coagulase gene typing of *Staphylococcus aureus* isolated from cows with mastitis in southeastern Brazil. *Can. J. Vet. Res.* 2005; 69 (4): 260–264. PMID: 16479723; PMCID: PMC1250237.
24. Gharibi D., Ghadimipour R., Ghorbanpoor M., Fazlari A. Restriction fragment length polymorphism typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis and dairy products in Ahvaz, Iran, using of digested coagulase gene. *Arch. Razi Inst.* 2019; 74 (3): 303–311. DOI: 10.22092/ari.2017.115900.1159.
25. Rossi B. F., Bonsaglia E. C. R., Castilho I. G., Dantas S. T. A., Salina A., Langoni H., et al. Genotyping of long term persistent *Staphylococcus aureus* in bovine subclinical mastitis. *Microb. Pathog.* 2019; 132: 45–50. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.04.031.
26. Senghore M., Bayliss S. C., Kwambana-Adams B. A., Foster-Nyarko E., Manneh J., Dione M., et al. Transmission of *Staphylococcus aureus* from humans to green monkeys in the Gambia as revealed by whole-genome sequencing. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82 (19): 5910–5917. DOI: 10.1128/AEM.01496-16.
27. Kalashnikova V. A. Pneumonia in monkeys kept in captivity: frequency of animal death, disease seasonality and microbe association. *Russian Veterinary Journal.* 2018; 4: 15–18. DOI: 10.32416/article_5bd1c1fb78c823.61694479. (in Russ.)
28. Kalashnikova V. A. Agr-typing of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) isolated from non-human primates. *Veterinary Science Today.* 2020; 2: 127–131. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-127-131.
29. Kalashnikova V. A. Molecular typing of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA), isolated from monkeys, based on coagulase gene polymorphism. *Veterinary Science Today.* 2019; 3: 57–62. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-57-62.
30. Hookey J. V., Richardson J. F., Cookson B. D. Molecular typing of *Staphylococcus aureus* based on PCR restriction fragment length polymorphism and DNA sequence analysis of the coagulase gene. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36 (4): 1083–1089. DOI: 10.1128/JCM.36.4.1083-1089.

Поступила в редакцию / Received 17.05.2021

Поступила после рецензирования / Revised 14.07.2021

Принята к публикации / Accepted 30.07.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Калашникова Виктория Алексеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Россия.

Victoria A. Kalashnikova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, FSBSI "SRI MP", Sochi, Russia.



Перспективы применения кормовой добавки на основе метаболитов *Bacillus subtilis* в молочном животноводстве

С. В. Малков¹, А. С. Красноперов², А. П. Порываева³, О. Ю. Опарина⁴, А. И. Белоусов⁵, А. Н. Бриллиант⁶

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-1961-4972>, e-mail: aibolit_2001@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-5281-803X>, e-mail: marafon.86@list.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-3224-1717>, e-mail: app1709@inbox.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-6106-3003>, e-mail: olia91oparina@yandex.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-7838-4126>, e-mail: white-knight@mail.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-9101-527X>, e-mail: brilliantlev@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты научно-производственного опыта применения кормовой добавки на основе эндо- и экзосметаболитов *Bacillus subtilis* коровам в разные физиологические периоды. Изучено ее влияние на функционирование основных систем организма подопытных животных ($n = 30$), показатели молочной продуктивности, интенсивность роста родившихся от них телят ($n = 18$). Коровам из опытных групп вводили в рацион кормовую добавку в дозе 15 г в сутки на 1 голову. Установлено, что кормовая добавка оказывает положительное влияние на нормализацию иммуногематологических и метаболических процессов у коров в послеродовой период. Показатель фагоцитарной активности нейтрофилов у животных 1-й опытной группы увеличился на 12,5%, 2-й опытной группы – на 14,6% по сравнению с контрольной группой ($42,8 \pm 1,9\%$). Поглотительная способность нейтрофилов у особей 1-й опытной группы увеличилась в 2,5 раза, 2-й опытной группы – в 3,2 раза, контрольной группы – в 2,1 раза. Содержание относительного количества Т-лимфоцитов в крови животных 1-й и 2-й опытных групп регистрировали на уровне 44,5 и 48,9% соответственно, у особей контрольной группы данный показатель был равен 37,5%. В послеродовой период отмечали тенденцию к увеличению концентрации общего белка в сыворотке крови коров за счет повышения альбуминовой фракции: в 1-й группе – $72,91 \pm 3,45$ г/л; во 2-й группе – $75,54 \pm 4,12$ г/л; в контрольной группе – $70,95 \pm 4,25$ г/л. Установлено, что за 150 дней лактации среднесуточный удой у коров 1-й группы составил $24,50 \pm 1,86$ кг; 2-й группы – $25,33 \pm 1,45$ кг; контрольной группы – $22,75 \pm 4,41$ кг. Зарегистрирована более высокая интенсивность роста телят, рожденных от коров, которым в основной рацион вводили кормовую добавку. Телочки 1-й и 2-й опытных групп за 6 мес. достигли живой массы тела, равной $193,51 \pm 5,76$ и $195,33 \pm 3,76$ кг, а особи контрольной – $187,33 \pm 4,98$ кг. В целях реализации задачи по созданию высокопродуктивного молочного стада и сохранения биологического благополучия сельскохозяйственных животных-продуцентов кормовая добавка на основе комплекса эндо- и экзосметаболитов *Bacillus subtilis* рекомендована к применению в рационах кормления коров.

Ключевые слова: молочное животноводство, кормовая добавка, *Bacillus subtilis*, иммуногематология, биохимия, среднесуточный прирост живой массы тела

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

Для цитирования: Малков С. В., Красноперов А. С., Порываева А. П., Опарина О. Ю., Белоусов А. И., Бриллиант А. Н. Перспективы применения кормовой добавки на основе метаболитов *Bacillus subtilis* в молочном животноводстве. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 342–348. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-342-348.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Красноперов Александр Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и патобиохимии ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, 620142, Россия, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а, e-mail: marafon.86@list.ru.

Prospects for the use of a *Bacillus subtilis* metabolites-based feed additive in dairy farming

S. V. Malkov¹, A. S. Krasnoperov², A. P. Poryvaeva³, O. Yu. Oparina⁴, A. I. Belousov⁵, A. N. Brilliant⁶

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

¹ ORCID 0000-0002-1961-4972, e-mail: aibolit_2001@mail.ru

² ORCID 0000-0001-5281-803X, e-mail: marafon.86@list.ru

³ ORCID 0000-0003-3224-1717, e-mail: app1709@inbox.ru

⁴ ORCID 0000-0001-6106-3003, e-mail: olia91oparina@yandex.ru

⁵ ORCID 0000-0002-7838-4126, e-mail: white-knight@mail.ru

⁶ ORCID 0000-0002-9101-527X, e-mail: brilliantlev@gmail.com

SUMMARY

Laboratory and field experiment on use of the feed additive based on *Bacillus subtilis* endo- and exometabolites for the cows in different physiological periods are described in the paper. The feed additive impact on main body systems of the tested cows ($n = 30$), milk production parameters, growth rate of the calves ($n = 18$) born to the said cows were examined. The feed additive was added to the diets for the cows of test groups, 15 g per cow. The feed additive was found to have a positive effect on immunohematological and metabolic processes in postpartum cows. Neutrophils' phagocytic activity increased by 12.5% and 14.6% in the animals of test group 1 and test group 2, respectively, as compared to that one in control animals ($42.8 \pm 1.9\%$). Neutrophil absorbency increased by 2.5 times, 3.2 times and 2.1 times in the animals of test group 1, test group 2 and control group, respectively. The proportion of T-lymphocytes in blood of animals in test group 1 and test group 2 was 44.5 and 48.9%, respectively, proportion of T-lymphocytes in blood of control animals equaled to 37.5%. Trend for increase in total protein concentration in cow sera owing to increase in albumin fraction was observed in postpartum period: it was 72.91 ± 3.45 g/l in test group 1; 75.54 ± 4.12 g/l in test group 2; 70.95 ± 4.25 g/l in control group. Average daily milk yield in cows of test group 1, test group 2 and control group for the 150 days of lactation was 24.50 ± 1.86 kg; 25.33 ± 1.45 kg and 22.75 ± 4.41 kg, respectively. Higher growth rate was reported for the calves born to the cows received the diet supplemented with the said feed additive. Heifers of test group 1 and test group 2 have reached body weight of 193.51 ± 5.76 and 195.33 ± 3.76 kg and in control group – of 187.33 ± 4.98 kg within 6 months. Feed additive based on endo- and exometabolites of *Bacillus subtilis* is recommended for cow diets for highly productive dairy herd creation and food-producing animal welfare maintenance.

Keywords: dairy farming, feed additive, *Bacillus subtilis*, immunohematology, biochemistry daily body weight gain

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

For citation: Malkov S. V., Krasnoperov A. S., Poryvaeva A. P., Oparina O. Yu., Belousov A. I., Brilliant A. N. Prospects for the use of a *Bacillus subtilis* metabolites-based feed additive in dairy farming. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 342–348. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-342-348.

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

For correspondence: Alexander S. Krasnoperov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Pathobiochemistry, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, 620142, Russia, Ekaterinburg, ul. Belinsky, 112a, e-mail: marafon.86@list.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время отечественное молочное скотоводство является одной из динамично развивающихся отраслей сельского хозяйства Российской Федерации. Развитие, совершенствование и экономическая эффективность данного направления животноводства в части удовлетворения населения страны молочными продуктами должны обеспечиваться в большей степени за счет оптимизации механизмов государственной поддержки, привлечения инвестиций, повышения технологичности и увеличения продуктивности стада [1, 2]. Основным путем наращивания объемов производства молока является рациональное использование животных с генетическим потенциалом мирового уровня и выращивание коров высокопродуктивных молочных пород, разработка и применение физиологически адекватных, экономически обоснованных схем кормопроизводства и полноценного кормления [3, 4].

Вследствие сокращения поголовья молочного скота в нашей стране все более актуальной становится задача увеличения объемов молока собственного производства за счет повышения продуктивности животных

и создания условий для реализации их генетического потенциала. В то же время определение показателей безопасности молока и молочной продукции остается актуальным вопросом для сохранения здоровья населения страны.

Планомерное развитие молочного животноводства неразрывно связано с разработкой систем повышения продуктивности и охраной здоровья животных. С этой целью используются всевозможные методы, включающие применение различных препаратов, не всегда безопасных в экологическом отношении. Поэтому все чаще внедряются биотехнологические методы и средства модернизации животноводства, особенно с применением новых кормовых добавок, разработанных на основе пребиотиков и метаболитов [5, 6]. Метабиотические кормовые добавки содержат метаболиты, или структурные компоненты пробиотических микроорганизмов. Метабиотики избирательно стимулируют рост и биологическую активность микроорганизмов нормальной кишечной микрофлоры. Они нацелены на нормализацию работы пищеварительного тракта, оказывая стабилизирующее влияние на микробиоту и поддерживая эубиоз, оптимизируют процессы

Таблица 1
Схема научно-производственного опыта на коровах

Table 1
Design of scientific and production experiment in cows

Группа животных	Схема опыта
1-я опытная ($n = 10$)	Основной рацион + 15 г кормовой добавки каждой корове на протяжении 14 сут до отела
2-я опытная ($n = 10$)	Основной рацион + 15 г кормовой добавки каждой корове на протяжении 14 сут до отела и 14 сут после отела
Контрольная ($n = 10$)	Основной рацион

метаболизма и иммунитета, что в конечном итоге должно приводить к повышению продуктивного потенциала и улучшению качества продукции [6–8].

Важной задачей для исследователей и разработчиков биотехнологической отрасли является создание и внедрение новых отечественных кормовых добавок на основе метаболитов бактериальных клеток, способных обеспечивать управляемый микробиоценоз кишечника, не вступая в конфликт с его собственной микробиотой, технологичных в производстве и стабильных при хранении [6, 7, 9].

Целью исследования было изучение в условиях научно-производственного эксперимента воздействия кормовой добавки на основе эндо- и экзотметаболитов *Bacillus subtilis* на функционирование основных систем организма коров, их молочную продуктивность и интенсивность прироста живой массы их потомства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены в лаборатории иммунологии и патобиохимии Уральского научно-исследовательского ветеринарного института ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН и в одной из сельскохозяйственных организаций Уральского федерального округа в весенне-летний и летне-осенний периоды 2019 г.

Объект исследования: коровы черно-пестрой породы 2–3-й лактации с кровностью по голштинской породе 75% и выше ($n = 30$) и рожденные от них телочки ($n = 18$).

В состав изучаемой кормовой добавки входил комплекс эндо- и экзотметаболитов бактериальных клеток *Bacillus subtilis* (протеины, аминокислоты, ферменты,

антибиотические вещества, структурные компоненты разрушенных бактериальных клеток и др.).

Группы животных для проведения научно-производственного опыта формировали по принципу аналогов: две опытные и одна контрольная по 10 коров в каждой идентичного физиологического состояния – позднего сухостойного периода. Все животные были клинически здоровы, содержались в одном животноводческом помещении на основном рационе, принятом в сельскохозяйственной организации. Коровам в обеих опытных группах дополнительно к основному рациону индивидуально скармливали исследуемую кормовую добавку. Временной отрезок применения кормовой добавки (14 сут до и после отела) был определен исходя из периода максимальной метаболической нагрузки на организм животных [10]. Схема исследований отражена в таблице 1.

Наблюдение за физиологическим состоянием коров осуществляли ежедневно в течение 150 сут. Начиная с 15-го дня после отела проводили ежемесячные контрольные дойки для учета объемов молочной продуктивности. Объем массовой доли жира в молоке определяли на автоматическом анализаторе «Комбифосс FT+» (Foss, Дания).

Забор крови для лабораторных исследований проводили в вакуумные пробирки трижды: в день после отела (фон), через 14 и 28 сут в утренние часы до кормления.

Эксперименты на животных проводили в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации (2000 г.) и Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, использующихся в научных целях.

Морфологический состав крови определяли на анализаторе Abacus Junior Vet (Diatron, Австрия), применяя стандартные реактивы (Diatron, Австрия); лейкоцитарную формулу подсчитывали в мазках крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе (300 клеток на мазок) на микроскопе Olympus BX 43 (Olympus, Япония). Иммунологические исследования крови включали определение относительного содержания Т- и В-лимфоцитов, индекса Т/В, фагоцитарного индекса (ФИ), фагоцитарной активности (ФА) нейтрофилов и моноцитов по методике П. Н. Смирнова и соавт. (2007) [11]. Учет реакций проводили на микроскопе бинокулярном MC 100 (XP) (Micros, Австрия). Биохимические исследования осуществляли на анализаторе Chem Well-2910

Таблица 2
Схема исследования прироста живой массы телят

Table 2
Design of tests of calves for body weight gains

Группа животных	Характеристика животных	Кормление			Периодичность индивидуальных взвешиваний
		1–5-й день	6–15-й день	16-й день и далее	
1-я опытная ($n = 6$)	Телочки, рожденные от коров из 1-й опытной группы	Индивидуально от коров-матерей дочерям трехкратное выпаивание молозива	Индивидуально от коров-матерей дочерям выпаивание молока	Сборное цельное молоко и основной рацион для молодняка	При рождении, в 1 мес., в 2 мес., в 3 мес., в 4 мес., в 5 мес., в 6 мес.
2-я опытная ($n = 6$)	Телочки, рожденные от коров из 2-й опытной группы				
Контрольная ($n = 6$)	Телочки, рожденные от коров из контрольной группы				

Combi (Awaveness Technology, США) с применением оригинальных наборов реактивов (Vital Diagnostics SPb, Россия; DIALAB GmbH, Австрия), используя турбометрические, кинетические и колориметрические методы. Достоверность выполненных измерений подтверждена контрольными материалами, рекомендованными производителями реактивов.

Для оценки интенсивности прироста живой массы потомства, родившегося от участвовавших в научно-производственном опыте коров-матерей, были сформированы три группы телочек. Схема исследований отражена в таблице 2.

Для всех показателей рассчитывали среднее арифметическое значение и стандартное отклонение, которые представляли как $\bar{x} \pm s.d.$ Расчеты и графические построения выполнены в пакетах PAST (version 4.05) и MS Excel 2016.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты фоновых исследований основных морфологических градиентов крови у коров опытных и контрольной групп показали соответствие нормативным значениям послеродового периода без существенных межгрупповых различий. При исследовании образцов крови коров через 14 и 28 сут после отела наблюдали вариabельность показателей количества эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, лимфоцитов, тромбоцитов, которые не выходили за границы диапазона показателей нормы. Динамика изменения гематологических показателей соответствовала процессам нормализации гемопоэза у коров в послеродовой период. Полученные в эксперименте данные согласуются с работами других исследователей [12, 13].

Анализ данных о состоянии клеточного звена иммунитета показал, что к 28 сут опыта возрастала функциональная активность клеток моноцитарно-макрофагального звена, о чем свидетельствовало увеличение поглотительной способности фагоцитирующих клеток. Показатель фагоцитарной активности нейтрофилов у животных опытных групп увеличился на 12,5% (1-я группа, ФА $55,32 \pm 1,31\%$) и 14,6% (2-я группа, ФА $57,44 \pm 1,72\%$) по сравнению с таковым у особей контрольной группы (ФА $42,80 \pm 1,91\%$). При этом поглотительная способность (ФИ) нейтрофилов активизировалась у животных всех групп, но амплитуда нарастания была различной. У особей 1-й опытной группы ФИ увеличился в 2,5 раза по сравнению с фоновым значением и составил в среднем по группе $9,61 \pm 0,54$ у. е. У животных 2-й опытной группы ФИ увеличился в 3,2 раза ($11,82 \pm 1,14$ у. е.), контрольной группы – в 2,1 раза ($8,21 \pm 0,76$ у. е.). Содержание относительного количества Т-лимфоцитов в крови животных 1-й и 2-й опытных групп регистрировали на уровне 44,5 и 48,9%, что соответствовало нормативным физиологическим показателям (40–60%). У коров контрольной группы относительное количество Т-лимфоцитов составляло 37,5%.

Соотношение Т/В-лимфоцитов у особей 1-й и 2-й опытных групп, равное $1,51 \pm 0,12$ и $2,22 \pm 0,09$ у. е. соответственно, свидетельствовало о балансе в системе клеточного и гуморального звена иммунитета. У животных контрольной группы к 28 сут опыта отмечали некоторое превалирование гуморального звена иммунной системы – соотношение Т/В-лимфоцитов составило $1,39 \pm 0,07$ у. е.

Таким образом, можно предположить, что применение кормовой добавки оказало опосредованное положительное влияние на процессы нормализации гемопоэза и стабилизации уровня естественной резистентности организма у коров в послеродовой период.

При анализе динамики изменения биохимических показателей у коров из всех групп после отела наблюдали тенденцию к увеличению содержания общего белка в сыворотке крови за счет повышения альбуминовой фракции. Концентрация общего белка к 28 сут опыта у коров 1-й группы составила $72,91 \pm 3,45$ г/л; 2-й группы – $75,54 \pm 4,12$ г/л; контрольной группы – $70,95 \pm 4,25$ г/л (рис. 1).

При оценке состояния липидного обмена на протяжении опыта у коров всех групп регистрировали незначительные колебания содержания холестерина и триглицеридов, которые не выходили за границы диапазона референсных значений. Так, содержание холестерина у коров не превышало 3,2 ммоль/л, а количество триглицеридов находилось в диапазоне 0,2–0,3 ммоль/л.

Не менее важным является тот факт, что показатели ферментативной активности щелочной фосфатазы у коров опытных групп имели положительные значения. К 28 сут эксперимента уровень щелочной фосфатазы у животных 1-й опытной группы был на 20,56%, а 2-й группы – на 29,46% ниже по сравнению с контрольной группой. Показатель активности аспартатаминотрансферазы (АсАТ) у животных всех групп находился в границах диапазона нормативных значений. Выявленные изменения указывали на общее снижение токсической нагрузки на гепатобилиарную систему животных в послеродовой период.

Интенсивность минерального обмена определяли по динамике изменения содержания кальция и фосфора в сыворотке крови коров. Так, кумуляция этих элементов в сыворотке крови у животных 1-й и 2-й опытных групп была выше, чем у контрольных особей в среднем на 5,66 и 6,67% (рис. 1).

Можно предположить, что вариabельность отдельных иммунобиохимических показателей крови у коров опытных групп была вызвана опосредованным позитивным действием кормовой добавки, что согласуется с результатами ряда исследователей [2, 12].

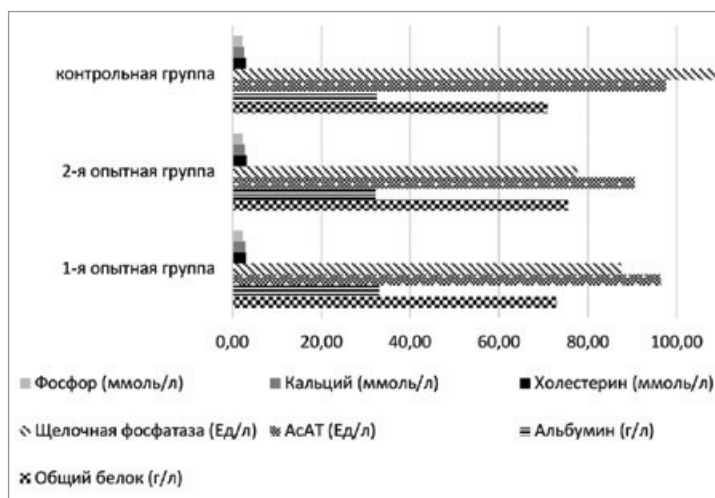


Рис. 1. Биохимические показатели на 28-е сутки исследований

Fig. 1. Biochemical parameters on day 28 of experiment

Кроме того, следует отметить положительное действие добавки на накопление значительного уровня энергии, необходимого животным для поддержания здоровья и продуктивности. Этот факт подтверждается полученными данными молочной продуктивности коров на протяжении опытного периода.

На рисунке 2 представлены графические данные молочной продуктивности по всем группам животных. Наивысшие значения удоев были зарегистрированы к 90-му дню лактации. Среднесуточные удои молока у животных 1-й опытной группы составили $28,70 \pm 2,65$ кг, 2-й группы – $32,17 \pm 1,92$ кг, контрольной – $27,90 \pm 3,24$ кг.

К окончанию эксперимента были зарегистрированы следующие показатели среднесуточных удоев: у коров 1-й опытной группы – $24,50 \pm 1,86$ кг; 2-й группы – $25,33 \pm 1,45$ кг; контрольной – $22,75 \pm 4,41$ кг.

В течение всего опытного периода, начиная со второго месяца после отела, сохранялось превосходство синтеза молочной продукции коровами, в рацион которых была введена кормовая добавка, по сравнению с продуктивностью особей контрольной группы.

Важным критерием оценки качества молока является содержание массовой доли белка. На протяжении исследования регистрировали изменчивость содержания массовой доли белка в интервале 2,85–3,38%. В среднем значение этого показателя в течение экс-

перимента в контрольной группе составило 3,01%, в 1-й опытной группе – 3,03%, во 2-й опытной группе – 3,27%, что доказывает положительное влияние кормовой добавки на качество молока.

В условиях современных технологий, внедряемых в молочном животноводстве, актуальным остается контролируемое выращивание ремонтных телок с возможностью дальнейшего получения высокопродуктивных коров. Этого можно достичь при условии повышения интенсивности прироста живой массы молодняка, которая непосредственно связана с будущей молочной продуктивностью [14].

В связи с этим определяли среднесуточные приросты живой массы будущих ремонтных телок, полученных от коров, которым скармливали кормовую добавку (рис. 3).

При одинаковых условиях кормления и содержания телята, рожденные от коров, получавших в сухостойный и послеродовой период кормовую добавку, развивались более интенсивно в первые два месяца жизни. Средняя живая масса новорожденных телят, полученных от коров как опытных, так и контрольной групп, составляла $37,91 \pm 1,24$ кг. В дальнейшем более высокую скорость прироста живой массы тела регистрировали у телочек, рожденных от коров-матерей, которым в основной рацион вводили кормовую добавку. Так, телочки 1-й и 2-й опытных групп за 6 мес. достигли живой массы тела, равной $193,51 \pm 5,76$ и $195,33 \pm 3,76$ кг, а особи контрольной группы – $187,33 \pm 4,98$ кг.

Увеличение привесов у животных в опытных группах по сравнению с контрольной наблюдали на всем протяжении опыта, что подтверждает положительное влияние кормовой добавки на интенсивность роста молодняка.

Доказано, что первые шесть месяцев жизни наиболее важные для развития и функциональной настройки работоспособности внутренних органов, выработки способности усваивать питательные вещества из разных компонентов корма, что опосредованно влияет на будущую молочную продуктивность и интенсивность роста животного [15, 16]. Полученные данные могут быть объяснены тем, что в результате применения кормовой добавки происходила нормализация обмена веществ в организме коров-матерей, у них легче проходили отелы, телята рождались более жизнеспособными, менее подверженными заболеваниям и более эффективно использующими питательные вещества рациона. Результаты исследования согласуются с данными ряда авторов [17–19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях научно-производственного опыта была показана перспективность применения кормовой добавки на основе комплекса метаболитов *Bacillus subtilis* в молочном животноводстве. Установлено положительное действие данной кормовой добавки на гемопозитические и метаболические процессы у коров. Так, вне зависимости от схемы применения исследуемой кормовой добавки у подопытных животных в послеродовом периоде восстановление и стабилизация иммуногематологических и биохимических параметров крови завершалась к 25–28-м сут. Показатели белкового, липидного и минерального обменов у коров опытных групп находились на уровне верхней границы нормы. При анализе метаболических маркеров, характеризую-

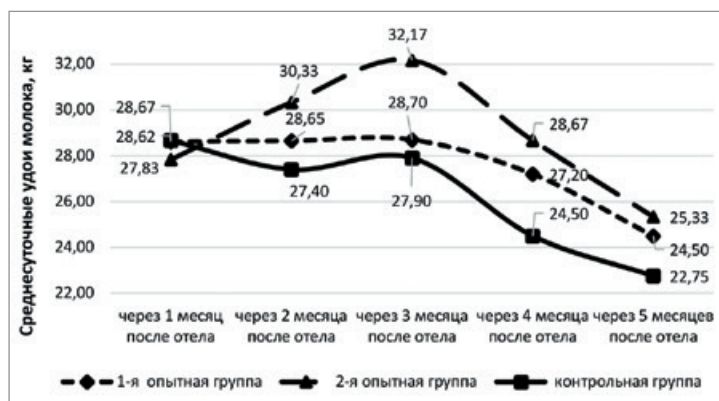


Рис. 2. Динамика среднесуточных удоев в период опыта (кг)

Fig. 2. Dynamics of daily milk yields (kg) during the experiment

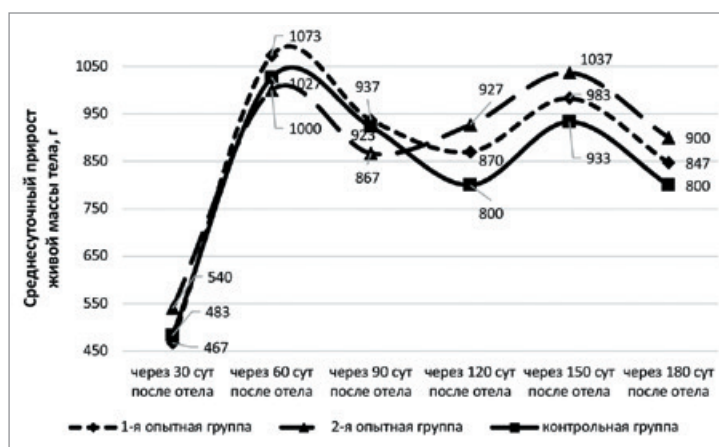


Рис. 3. Динамика среднесуточного прироста живой массы телок (г)

Fig. 3. Dynamics of daily body weight gains (g) calves

щих состояние гепатобилиарной системы, установлено, что уровень токсической нагрузки на паренхиматозные органы у животных опытных групп к 28-м сут был минимален.

Исследуемая кормовая добавка на основе комплекса метаболитов *Bacillus subtilis* оказывает пролонгированное корректирующее действие на зубиоз кишечника коров, что выражается в эффективной усвояемости питательных веществ рациона и их перевариваемости. Подтверждением этого служили показатели молочной продуктивности животных: среднесуточные удои у коров 1-й и 2-й опытных групп составляли $24,50 \pm 1,86$ и $25,33 \pm 1,45$ кг соответственно, а у животных контрольной группы – $22,75 \pm 4,41$ кг.

Выпаивание молозива и молока от коров-матерей, получавших кормовую добавку, телочкам-дочерям оказывало положительное влияние на скорость роста молодняка (среднесуточный прирост живой массы тела в 1-й группе – 862 г, во 2-й группе – 878 г; средняя живая масса тела теленка к 6 мес. в 1-й группе – $193,51 \pm 5,76$ кг, во 2-й группе – $195,33 \pm 3,76$ кг).

В целях реализации задачи по созданию высокопродуктивного молочного стада и сохранения биологического благополучия сельскохозяйственных животных-продуцентов рекомендуем применение кормовой добавки на основе комплекса эндо- и экзометаболитов *Bacillus subtilis* в рационах кормления коров: 1) в поздний сухостойный период – в течение 14 дней до отела в дозе 15 г/гол.; 2) для профилактики метаболических нарушений, коррекции общей резистентности организма и повышения продуктивности в послеродовой период – в течение 14 дней после отела в дозе 15 г/гол.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Столярова О. А., Столярова Ю. В. Совершенствование государственной поддержки молочного скотоводства региона. *Региональная экономика: теория и практика*. 2017; 15 (6): 1148–1161. DOI: 10.24891/re.15.6.1148.
- Белосов А. И., Соколова О. В., Беспамятных Е. Н. Применение биохимического скрининга при оценке продуктивного здоровья высокопродуктивных коров в Свердловской области. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. 2018; 4: 278–280. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2018.4.278.
- Горелик В. С., Таирова А. Р., Харлап С. Ю. Эффективность использования препаратов хитозана в молочном скотоводстве. *Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство*. 2016; 2: 17–22. Режим доступа: <https://panor.ru/articles/effektivnost-ispolzovaniya-preparatov-khitozana-v-molochnom-skotovodstve/68596.html>.
- Субботина Н. А., Морозова Л. А., Миколайчик И. Н. Раздой коров на рационах, обогащенных кормовой добавкой «Мегалак». *Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство*. 2016; 8: 39–46. Режим доступа: <https://panor.ru/articles/razdoy-korov-na-ratsionakh-obogashchennykh-kormovoy-dobavkoy-megalak/69441.html>.
- Suresh G., Cabezedo I., Pulicharla R., Cuprys A., Rouissi T., Brar S. K. Biodegradation of aflatoxin B₁ with cell-free extracts of *Trametes versicolor* and *Bacillus subtilis*. *Res. Vet. Sci.* 2020; 133: 85–91. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.09.009.
- Ардатская М. Д., Столярова Л. Г., Архипова Е. В., Филимонова О. Ю. Метабиотики как естественное развитие пробиотической концепции. *Трудный пациент*. 2017; 15 (6–7): 35–39. Режим доступа: <https://t-pacient.ru/articles/9652>.
- Плотникова Е. Ю., Грачева Т. Ю. Метабиотики – комплексное решение дисбиотических проблем при различных заболеваниях. *РМЖ*. 2018; 26 (5–2): 72–76. Режим доступа: https://www.rmj.ru/articles/pediatrya/Metabiotiki_kompleksnoe_reshenie_disbioticheskikh_problemy_pri_razlichnykh_zabolevaniyakh/.
- Червинец Ю. В., Червинец В. М., Шендеров Б. А. Современные представления о биотехнологическом потенциале симбиотической микробиоты человека. *Верхневолжский медицинский журнал*. 2018; 17 (1): 19–26. Режим доступа: <http://medjournal.tvergma.ru/id/eprint/355>.
- Яковенко Э. П., Агафонова Н. А., Яковенко А. В., Иванов А. Н., Солянова И. П. Антибиотики, пребиотики, пробиотики, метабиотики при

избыточном бактериальном росте в тонкой кишке. *Трудный пациент*. 2018; 16 (4): 16–22. Режим доступа: <https://t-pacient.ru/articles/9836/>.

10. Фомичев Ю. П., Гусев И. В., Сулима Н. Н., Ермаков И. Ю. Влияние энергетических кормовых добавок на метаболическое здоровье и продуктивность молочных коров. *Кормопроизводство*. 2018; 1: 40–48. DOI: 10.25685/KRM.2018.2018.9953.

11. Панель наиболее информативных тестов для оценки резистентности животных: методические рекомендации. Сост. П. Н. Смирнов и др. Новосибирск; 2007; 37 с. eLIBRARY ID: 19495039.

12. Чабаяев М. Г., Некрасов Р. В., Кумарин С. В., Зеленченкова А. А., Виноградов В. Н., Савушкин В. А., и др. Влияние скормливания пробиотиков на основе спорообразующих бактерий на продуктивность и обмен веществ у телят-молочников и новотельных коров. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2016; 2: 55–65. Режим доступа: <http://bifip.ru/zurnal/arkhiv/item/vliyanie-skarmlivaniya-probiotikov-na-osnove-sporoobrazuyushchikh-bakterij-na-produktivnost-i-obmen-veshchestv-u-tyelat-molochnikov-i-novotelnykh-korov>.

13. Расторгуева С. Л., Ибишов Д. Ф., Осипов А. П. Исследование комплексного влияния Витадаптина, Гувитана-С и Гермивита на абсолютное содержание лейкоцитов, лимфоцитов и нейтрофилов в периферической крови сухостойных коров. *Пермский аграрный вестник*. 2019; 2 (26): 136–142. Режим доступа: http://agrovost.psaa.ru/wp-content/uploads/2019/08/agrar_vest-2-26.pdf.

14. Некрасов Р. В., Чабаяев М. Г., Зеленченкова А. А., Сулова И. А., Карташов М. И., Роговский С. В. Продуктивность крупного рогатого скота при обогащении рационов пробиотическим препаратом. *Молочное и мясное скотоводство*. 2016; 7: 19–22. eLIBRARY ID: 28091505.

15. Шацких Е. В., Бармина И. П. Молочная продуктивность коров голштинской черно-пестрой породы американской селекции в условиях Среднего Урала. *Главный зоотехник*. 2016; 11: 3–8. eLIBRARY ID: 27277510.

16. Любимов А. И., Азимова Г. В., Малков А. Н. Применение препарата «Ветом 1.1» в профилактике диареи телят. *Аграрная Россия*. 2016; 5: 8–9. DOI: 10.30906/1999-5636-2016-5-8-9.

17. Плешков В. А. Пробиотическая кормовая добавка «Бацелл-М» в рационе телят. *Достижения науки и техники АПК*. 2018; 32 (12): 53–54. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-12125.

18. Плешков В. А., Смоловская О. В., Коробейникова Л. Н. Эффективность применения пробиотиков «Моноспорин» и «Бацелл» в рационах телят. *Актуальные научно-технические средства и сельскохозяйственные проблемы: материалы II Национальной научно-практической конференции (5 июля 2019 г.)*. Кемерово: Кузбасская ГСХА; 2019; 28–31. Режим доступа: <http://www.ksai.ru/upload/files/sborniki/other/2019/Sbornik%20конференции.pdf>.

19. Magomedaliyev I. M., Nekrasov R. V., Chabaev M. G., Dzhevakhya V. V., Glagoleva E. V., Kartashov M. I., et al. Use of different concentrations of enzymesporin probiotic in feeding of growing young pigs. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2019; 9 (4): 704–708. DOI: 10.15421/2019_813.

REFERENCES

- Stolyarova O. A., Stolyarova Yu. V. Improving public support of dairy cattle breeding in the region. *Regional Economics: Theory and Practice*. 2017; 15 (6): 1148–1161. DOI: 10.24891/re.15.6.1148. (in Russ.)
- Belousov A. I., Sokolova O. V., Bepamyatnykh E. N. The use of biochemical screening in assessing the productive health of high-yielding cows in the Sverdlovsk Region. *Issues of Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2018; 4: 278–280. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2018.4.278. (in Russ.)
- Gorelik V. S., Tairova A. R., Kharlap S. Yu. The effectiveness of the use of drugs of Chitosan in dairy cattle breeding. *Feeding of agricultural animals and feed production*. 2016; 2: 17–22. Available at: <https://panor.ru/articles/effektivnost-ispolzovaniya-preparatov-khitozana-v-molochnom-skotovodstve/68596.html>. (in Russ.)
- Subbotina N. A., Morozova L. A., Mikolaychik I. N. Increasing the milk yield of cows on rations enriched by feed additive Megalac. *Feeding of agricultural animals and feed production*. 2016; 8: 39–46. Available at: <https://panor.ru/articles/razdoy-korov-na-ratsionakh-obogashchennykh-kormovoy-dobavkoy-megalak/69441.html>. (in Russ.)
- Suresh G., Cabezedo I., Pulicharla R., Cuprys A., Rouissi T., Brar S. K. Biodegradation of aflatoxin B₁ with cell-free extracts of *Trametes versicolor* and *Bacillus subtilis*. *Res. Vet. Sci.* 2020; 133: 85–91. DOI: 10.1016/j.rvsc.2020.09.009.
- Ardatskaya M., Stolyarova L., Arkhipova E., Filimonova O. Yu. Metabiotics as a natural development of a probiotic concept. *Difficult Patient*. 2017; 15 (6–7): 35–39. Available at: <https://t-pacient.ru/articles/9652>. (in Russ.)
- Plotnikova E. Yu., Gracheva T. Yu. Metabiotics – the complex solution of dysbiotic problems at various diseases. *RMJ*. 2018; 26 (5–2): 72–76. Available at: https://www.rmj.ru/articles/pediatrya/Metabiotiki_kompleksnoe_reshenie_disbioticheskikh_problemy_pri_razlichnykh_zabolevaniyakh/ (in Russ.)

8. Chervinets Yu. V., Chervinets V. M., Shenderov B. A. Modern concept on the biotechnological potential of symbiotic human microbiota. *Upper Volga Medical Journal*. 2018; 17 (1): 19–26. Available at: <http://medjournal.tvergma.ru/id/eprint/355>. (in Russ.)
9. Yakovenko E. P., Agafonova N. A., Yakovenko A. V., Ivanov A. N., Soluyanova I. P. Antibiotics, prebiotics, probiotics, metabiotics in the therapy of small intestinal bacterial overgrowth. *Difficult Patient*. 2018; 16 (4): 16–22. Available at: <https://t-patient.ru/articles/9836/>. (in Russ.)
10. Fomichev Yu. P., Gusev I. V., Sulima N. N., Ermakov I. Yu. Effectiveness of feed additives on cow metabolism and milk productivity. *Fodder Journal*. 2018; 1: 40–48. DOI: 10.25685/KRM.2018.2018.9953. (in Russ.)
11. Panel' naibolee informativnykh testov dlya otsenki rezistentnosti zhivotnykh: metodicheskie rekomendatsii = Panel of the most informative tests of animals for resistance: methodical guidelines. Prepared by P. N. Smirnov, et al. Novosibirsk; 2007; 37 p. eLIBRARY ID: 19495039. (in Russ.)
12. Chabaev M. G., Nekrasov R. V., Kumarin S. V., Zelenchenkova A. A., Vinogradov V. N., Savushkin V. A., et al. Effect of feeding probiotics on the basis of spore-forming bacteria on metabolism and productive traits in milky calves and calved cows. *Problems of Productive Animal Biology*. 2016; 2: 55–65. Available at: <http://bifp.ru/zhurnal/arkhiv/item/vliyanie-skarm-livaniya-probiotikov-na-osnove-sporobrazuyushchikh-bakterij-na-produktivnost-i-obmen-veshchestv-u-telyat-molochnikov-i-novotelnykh-korov>. (in Russ.)
13. Rastorguyeva S. L., Ibishov D. F., Osipov A. P. Integrated effect of the Vitadaplin, the Guvitan-C, and the Germiviti on the absolute level of leukocytes, lymphocytes, and neutrophils in the peripheral blood of dry cows. *Perm Agrarian Journal*. 2019; 2 (26): 136–142. Available at: http://agrovost.psa.ru/wp-content/uploads/2019/08/agrar_vest-2-26.pdf. (in Russ.)
14. Nekrasov R. V., Chabaev M. G., Zelenchenkova A. A., Suslova I. A., Kartashov M. I., Rogovskiy S. V. Productivity cattle at enrichment diets probiotic. *Dairy and Beef Cattle Farming*. 2016; 7: 19–22. eLIBRARY ID: 28091505. (in Russ.)
15. Shatskikh E., Barmina I. The milk productivity of cows of holstein black-and-white breed of american selection under conditions of middle Urals. *Glavnyi zootekhnik*. 2016; 11: 3–8. eLIBRARY ID: 27277510. (in Russ.)
16. Lyubimov A. I., Asimova G. V., Malkov A. N. Use of the drug "Vetom 1.1" in the prevention of diarrhea in calves. *Agrarnaya Rossiya*. 2016; 5: 8–9. DOI: 10.30906/1999-5636-2016-5-8-9. (in Russ.)
17. Pleshkov V. A. Probiotic feed additive "Bacell-M" in the diet of calves. *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2018; 32 (12): 53–54. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-11215. (in Russ.)
18. Pleshkov V. A., Smolovskaya O. V., Korobeynikova L. N. The effectiveness of the use of probiotics "Monosporin" and "Bacell" in calves rations. *Aktual'nye nauchno-tehnicheskie sredstva i sel'skokhozyaystvennye problemy: materialy II natsional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Current scientific and technical tools and agricultural challenges: Proceeding of the II National Scientific and Practical Conference (July 5, 2019)*. Kemerovo: Kuzbasskaya GSKhA; 2019; 28–31. Available at: <http://www.ksai.ru/upload/files/sborniki/other/2019/Sbornik%20konferentsii.pdf>. (in Russ.)
19. Magomedaliyev I. M., Nekrasov R. V., Chabaev M. G., Dzhabakhia V. V., Glagoleva E. V., Kartashov M. I., et al. Use of different concentrations of enzymesporin probiotic in feeding of growing young pigs. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2019; 9 (4): 704–708. DOI: 10.15421/2019_813.

Поступила в редакцию / Received 02.07.2021

Поступила после рецензирования / Revised 26.07.2021

Принята к публикации / Accepted 09.08.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Малков Сергей Витальевич, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и патобиохимии ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Красноперов Александр Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и патобиохимии ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Порываева Антонина Павловна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных болезней ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Опарина Ольга Юрьевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и патобиохимии ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Белоусов Александр Иванович, доктор ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и патобиохимии ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Бриллиант Александр Наумович, инженер-химик отдела ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Sergey V. Malkov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Pathobiochemistry, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia.

Alexander S. Krasnoperov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Pathobiochemistry, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia.

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

Olga Yu. Oparina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Pathobiochemistry, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia.

Alexander I. Belousov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Immunology and Pathobiochemistry, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia.

Alexander N. Brilliant, Chemical Engineer, Department of Veterinary and Laboratory Diagnostics with a Testing Laboratory, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia.



Влияние хлореллы на гематологические показатели и биодоступность питательных веществ рациона у макаков-резусов

Н. В. Гапонов^{1,2}, Ал. В. Панченко³, Ан. В. Панченко⁴, Ю. П. Чугуев⁵

¹ 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

²⁻⁵ ФГБНУ «Научно-исследовательский институт медицинской приматологии» (ФГБНУ «НИИ МП»), г. Сочи, Россия

^{1,2} <https://orcid.org/0000-0002-5086-7943>, e-mail: nv.1000@bk.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-1294-751X>, e-mail: shmaliy.a.v@gmail.com

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5346-7646>, e-mail: ando_pan@mail.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-8111-2298>, e-mail: chuguev.yurii@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Хлорелла обладает широким спектром биологической активности, в частности, проявляет выраженную антиоксидантную активность, противовоспалительные, противоопухолевые и противовирусные свойства. Изучению кормовых достоинств этой одноклеточной зеленой водоросли при использовании в составе рационов для сельскохозяйственных животных посвящен ряд исследований, однако вопрос возможности включения разных видов *Chlorella* в рацион приматов практически не изучен. Целью данной работы была оценка возможности замещения высокопротеиновых кормов животного и растительного происхождения на хлореллу, определение коэффициентов переваримости питательных веществ рационов и влияния сухой и суспензионной форм водоросли на гематологические, биохимические показатели крови у самцов макаков-резусов. Полученные при проведении эксперимента данные свидетельствуют о том, что включение в рацион хлореллы как в сухом виде, так и в виде клеточной суспензии способствует лучшей усвояемости питательных веществ. Так, в группе животных, получавших суспензию водоросли, усвояемость сырого протеина увеличилась на 4,18% ($p < 0,05$), сырого жира – на 4,70% ($p < 0,01$), сырой клетчатки – на 4,14% ($p < 0,05$) и сырой золы – на 12,32% ($p < 0,001$). У приматов, в рецептуру комбикорма которых был введен порошок хлореллы, коэффициенты переваримости сырого протеина были выше на 6,83% ($p < 0,001$), сырой клетчатки – на 4,78% ($p < 0,05$) и сырой золы – на 18,93% ($p < 0,001$). Результаты гематологических исследований указывают на отсутствие побочных эффектов от длительного употребления хлореллы приматами. Введение в рацион сухой хлореллы способствовало повышению уровня глюкозы в крови до верхней границы контрольных значений, тогда как суспензия хлореллы не оказывала такого эффекта. Таким образом, хлорелла может быть успешно использована в качестве компонента сбалансированного лабораторного рациона для приматов или в качестве кормовой добавки.

Ключевые слова: хлорелла, переваримость, состав крови, биохимический анализ крови, суспензия, приматы

Для цитирования: Гапонов Н. В., Панченко Ал. В., Панченко Ан. В., Чугуев Ю. П. Влияние хлореллы на гематологические показатели и биодоступность питательных веществ рациона у макаков-резусов. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 349–356. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-349-356.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Гапонов Николай Васильевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник ФГБНУ «НИИ МП», 354376, Россия, Краснодарский край, г. Сочи, с. Веселое, ул. Мира, 177, e-mail: nv.1000@bk.ru.

Effect of *Chlorella* on hematological parameters and nutrient bioavailability in the diet of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*)

N. V. Gaponov^{1,2}, Al. V. Panchenko³, An. V. Panchenko⁴, Yu. P. Chuguev⁵

¹ All-Russian Lupine Research Institute – Branch of the Federal Williams Research Center of Forage Production and Agroecology, Michurinsky settlement, Bryansk Oblast, Russia

²⁻⁵ FSBSI “Research Institute of Medical Primatology” (FSBSI “RIMP”), Sochi, Russia

^{1,2} <https://orcid.org/0000-0002-5086-7943>, e-mail: nv.1000@bk.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-1294-751X>, e-mail: shmaliy.a.v@gmail.com

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5346-7646>, e-mail: ando_pan@mail.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-8111-2298>, e-mail: chuguev.yurii@mail.ru

SUMMARY

Chlorella shows a wide spectrum of biological activity, in particular, it exhibits a pronounced antioxidant activity and demonstrates anti-inflammatory, antitumor and antiviral properties. A number of research works have been devoted to studying feed advantages of this unicellular green algae when used in the diets of livestock animals, but the possibility of including different *Chlorella* species in the diet of primates has not been practically studied. The aim of this work was to assess the possibility of replacing high-protein animal and vegetable feeds with *Chlorella*, to calculate the digestibility coefficients for the diet nutrients and the effect of algal dry and suspension forms on hematological and serum biochemical parameters in male rhesus monkeys. The data obtained during the experiment indicate that the inclusion of *Chlorella* in the diet both in the dry form and cell suspension improves nutrient digestibility. Thus, the digestibility of crude protein in the animals receiving algae suspension increased by 4.18% ($p < 0.05$), that of crude fat – by 4.70% ($p < 0.01$), crude fiber – by 4.14% ($p < 0.05$) and crude ash – by 12.32% ($p < 0.001$). The digestibility coefficients of crude protein in the primates receiving compound feed supplemented with *Chlorella* powder were higher by 6.83% ($p < 0.001$), those of crude fiber – by 4.78% ($p < 0.05$) and crude ash – by 18.93% ($p < 0.001$). The hematological study results indicate the absence of side effects from long-term *Chlorella* consumption by primates. The introduction of dry *Chlorella* into the diet increased blood glucose levels to the upper limit of the control values, while *Chlorella* suspension did not produce this effect. Thus, *Chlorella* can be successfully used as a component of a balanced laboratory diet for primates or as a feed additive.

Keywords: *Chlorella*, digestibility, blood composition, biochemical blood test, suspension, primates

For citation: Gaponov N. V., Panchenko A. V., Panchenko A. V., Chuguev Yu. P. Effect of *Chlorella* on hematological parameters and nutrient bioavailability in the diet of rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 349–356. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-349-356.

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

For correspondence: Nikolay V. Gaponov, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, FSBSI "Research Institute of Medical Primatology", 354376, Russia, Krasnodar Krai, Sochi, s. Veseloye, ul. Mira, 177, e-mail: nv.1000@bk.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Из пресноводных водорослей наибольшее приращение получила одноклеточная зеленая водоросль хлорелла (*Chlorella* spp.), которая оказалась удобной моделью для лабораторных исследований и использования в производственных условиях [1]. Одноклеточные вегетативные клетки этой водоросли обычно не превышают в диаметре 15 мкм, протопласт имеет один чашевидный хлоропласт с одним пиреноидом в утолщенной части. Размножается хлорелла исключительно автоспорами, возникающими обычно по 4–8 штук в одной клетке [2]. Хлорелла имеет длительную историю пищевого применения, по содержанию витаминов она превосходит все растительные корма и культуры сельскохозяйственного производства, в ее состав входят аминокислоты, в том числе незаменимые, что свидетельствует о ее перспективности как продуцента ценных органических соединений [3]. Кроме того, культивирование микроводорослей происходит в биореакторах на минеральных питательных средах, и выращенная суспензионная культура растительных клеток используется как генно-модифицируемая платформа для получения гетерологичных белков [4, 5].

Хлорелла является активным продуцентом белков, углеводов, липидов, витаминов с легко регулируемым соотношением этих соединений при изменении условий ее культивирования. В среднем высушенные водоросли состоят из 45% белка, 20% углеводов, 20% жира, 5–10% волокон, цинка, железа, магния, кальция, фосфора и т. д. Многие вещества, содержащиеся в хлорелле, накапливаются в культуральной среде, в структуре которой обнаружены витамин В1 (тиамин), В2 (рибофлавин), В3 (пантотеновая кислота), В5 (никотиновая кислота), В6 (пиридоксин), В12 (цианокобаламин), фолиевая кислота и ее производные, парааминобензой-

ная кислота, Н (биотин), инозит [6, 7]. Содержание этих витаминов в культуральной жидкости значительно превосходит их количество в клетках. Поэтому при использовании биомассы хлореллы в качестве кормовой добавки возможно также выпаивать животным суспензию клеток, не теряя находящиеся в ростовой среде витамины и другие биологически активные вещества.

Хлорелла обладает широким спектром биологической активности, в частности, проявляет выраженную антиоксидантную активность, противовоспалительные, противоопухолевые и противовирусные свойства [8]. Установлено, что водоросль защищает клетки INS-1 (832/13) поджелудочной железы от повреждения перекисью водорода, предотвращает повреждение мембран митохондрий, восстанавливает уровень аденозинтрифосфата и уменьшает клеточное содержание активных форм кислорода [9]. Компоненты, входящие в состав клеточной стенки хлореллы, обладают иммуностимулирующими свойствами, которые проявляются в усилении активности NK-клеток, повышении продукции интерферона- γ , интерлейкина-12, а также интерлейкина-1 β – Th1-ассоциированных цитокинов [10]. Применение хлореллы у людей с вирусным гепатитом С способствует снижению экспрессии РНК вируса, а также уровня аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы [11]. Сухой порошок *Chlorella pyrenoidosa* обладает химиопрофилактическим эффектом в отношении гепатоканцерогенеза у крыс [12]. Противоопухолевыми свойствами обладают как экстракты [13], так и полипептиды хлореллы [14]. Клинические испытания показали, что добавки, содержащие *Chlorella vulgaris*, могут облегчить состояние гиперлипидемии, гипергликемии, защитить от окислительного стресса, развития онкологических заболеваний и хронической обструктивной болезни

легких [3]. Кроме этого, применение хлореллы у беременных женщин способствует уменьшению переноса диоксинов в грудное молоко и повышению содержания в нем иммуноглобулинов [15].

Введение суспензии хлореллы в рацион сельскохозяйственных животных сокращает до минимума падеж молодняка, способствует лучшему усвоению корма, улучшает перистальтическую функцию кишечника, предотвращая застой и воспаление слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта (дивертикулит), реабсорбцию токсических веществ, а также распространение несапрофитных микробов [7]. Противовоспалительные и антиоксидантные свойства водоросли обеспечивают снятие симптомов при язвенном колите, синдроме раздраженного кишечника и болезни Крона. Хлорелла обогащает организм многими необходимыми питательными веществами [16, 17], увеличивает сопротивляемость организма к инфекционным заболеваниям, что особенно важно при вольерном содержании животных в зимний период и является профилактическим средством против авитаминозных состояний в осенне-зимний период [7].

В рацион человеку и животным хлореллу можно добавлять в виде суспензии, пасты или сухой биомассы [7]. Однако вопрос возможности включения разных видов данной водоросли в рацион приматов практически не изучен. Учитывая разнообразие биологические эффекты добавок из хлореллы, необходимо проводить не только оценку влияния на переваримость веществ, но и на основные гематологические и биохимические параметры организма.

Таким образом, целью исследования была оценка возможности замещения высокопротеиновых кормов животного и растительного происхождения на хлореллу, определение коэффициентов переваримости питательных веществ рационов и влияния сухой и суспензионной форм водоросли на гематологические, биохимические показатели крови у самцов макаков-резусов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. В опытах использовали 15 самцов макаков-резусов (*Macaca mulatta*) в возрасте от 7 до 15 лет (питомник ФГБНУ «НИИ МП»), которых содержали в индивидуальных клетках. По методу пар-аналогов с учетом возраста животные были распределены на три группы – контрольную и две опытные (по 5 голов в каждой), которые различались по рациону питания [18].

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».

Состав используемых кормов. В экспериментах использовали полнорацционный гранулированный комбикорм, который изготавливали на производственном участке ФГБНУ «НИИ МП». В его составе на долю пшеницы приходилось 21,40%, жмыха соевого – 17,42%, жмыха подсолнечного – 13,83%, сухого обезжиренного молока – 14,39%, кукурузы – 13,35%, глютену кукурузно-

Таблица 1

Биохимический состав полнорацционного комбикорма и хлореллы

Table 1

Complete feed and chlorella powder biochemical composition

Показатели (на 1 кг)	Полнорацционный комбикорм	Полнорацционный комбикорм с порошком хлореллы (13,25%)	Порошок хлореллы
Обменная энергия (приматы), МДж	13,36	13,32	21,14
Сухое вещество, г	818	813	983
Сырой протеин, г	269	278	500
Переваримый протеин (приматы), г	227	231	–
Лизин, г	88	91	51
Метионин + цистин, г	6,8	9,3	36
Триптофан, г	3,3	4,3	15,0
Сырой жир, г	70	67	259
Сырая клетчатка, г	39	40	10
Безазотистые экстрактивные вещества, г	284	280	356
Крахмал, г	242	241	–
Сахар, г	192	191	–
Кальций, г	16,3	16,4	11,0
Фосфор, г	8,8	9,6	18,0
Магний, г	2,6	2,6	0,7
Калий, г	5,9	5,8	9,8
Сера, г	2,4	2,3	2,5
Железо, мг	75	120	528
Медь, мг	14,5	14,7	5,0
Цинк, мг	20,9	19,0	3,0
Марганец, мг	20,1	20,0	2,2
Кобальт, мг	10,5	10,4	0,2
Йод, мг	0,18	0,42	3,0
Каротин, мг	1,3	1,3	6,5
Витамин А, МЕ	800	158	1700
Витамин Д, МЕ	15	14	127
Витамин Е, мг	6,1	6,0	8,7
Витамин В1, мг	5,2	5,2	2,5
Витамин В2, мг	3,0	2,9	9,6
Витамин В3, мг	5,4	5,3	2,2
Витамин В4, мг	735	717	2175
Витамин В5, мг	243,4	241,9	1,6
Витамин В12, мкг	14,3	12,0	11,0

го – 11,24%, яичного порошка – 3,30% и сахара – 4,27%. Рацион животных контрольной группы сбалансировали в энергетическом отношении введением 0,80% масла подсолнечного. Биохимический состав кормов и хлореллы приведен в таблице 1.

Таблица 2
Схема проведения опытов

Table 2
Experimental design

Группы	Количество животных, гол.	Условия кормления
I Контрольная	5	Полнораационный комбикорм
II Опытная	5	Полнораационный комбикорм + суспензия хлореллы 2,8 мл/кг живой массы
III Опытная	5	Полнораационный комбикорм + содержание сухой хлореллы 13,25%. На сухую хлореллу замещены 90% сухого молока и 9% яичного порошка

Хлореллу (*Chlorella vulgaris*, штамм ИФР № С-111) в рационах опытных групп приматов применяли в форме суспензии с концентрацией клеток 55–60 млн/см³ (ООО «Биоцентр «Геофлора», Россия) и сухого порошка (ООО «Грин», Россия). Суспензию хлореллы вводили с питьевой водой по 2,8 мл/кг массы тела в сутки дополнительно к полнораационному комбикорму. При введении в рацион порошка хлореллы, доля которой составила 13,25%, в рецептуре комбикорма содержание сухого обезжиренного молока снизилось на 90%, а яичного порошка – на 9%.

Схема постановки эксперимента представлена в таблице 2.

В первой (контрольной) группе приматы потребляли полнораационный гранулированный комбикорм

и водопроводную воду, в рацион второй (опытной) группы включали суспензию хлореллы. В третьей (еще одной опытной) группе животные получали модифицированный порошок хлореллы комбикорм. Длительность эксперимента составила 35 сут.

На первом этапе в течение 5 сут осуществляли подготовку животных к условиям клеточного содержания, а также замену рациона для исключения влияния предшествующего кормления. Режим кормления приматов во всех группах был одинаковым.

На втором этапе в течение 5 сут проводили тщательный учет потребленного корма и выделенных экскрементов. Кал собирали ежедневно в одно и то же время (утром и вечером), взвешивали и растирали в ступке. При каждом сборе на анализ брали 50% гомогенизированной массы. Собранные порции хранили в холодильнике. После окончания учетного периода в собранных образцах кала определяли первоначальную влагу высушиванием при 60–70 °С до постоянной массы.

Неорганическую часть биохимического состава полнораационного 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 (М-049-PM/12)», ФР.1.31.2014.17343. Остальные показатели определяли на спектральном анализаторе кормов NIRS DS2500F (FOSS, Дания).

Таблица 3
Гематологические показатели у макаков-резусов

Table 3
Hematological parameters in rhesus monkeys

Показатель	Группа I (контрольная)		Группа II (опытная)		Группа III (опытная)		Референтные значения*
	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта	
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	9,8 $\pm$ 1,6	10,8 $\pm$ 2,0	12,6 $\pm$ 1,0	13,4 $\pm$ 1,8	11,5 $\pm$ 1,6	10,2 $\pm$ 1,4	3,1–12,1
Эритроциты, $\times 10^{12}/\text{л}$	6,30 $\pm$ 0,05	6,43 $\pm$ 0,17	6,31 $\pm$ 0,18	5,84 $\pm$ 0,09	6,14 $\pm$ 0,39	6,14 $\pm$ 0,19	4,39–7,02
Гемоглобин, г/л	143 $\pm$ 1	145 $\pm$ 1	145 $\pm$ 6	137 $\pm$ 4	135 $\pm$ 9	137 $\pm$ 4	96–143
Гематокрит, л/л	0,43 $\pm$ 0,01	0,43 $\pm$ 0,00	0,43 $\pm$ 0,02	0,41 $\pm$ 0,01	0,41 $\pm$ 0,03	0,41 $\pm$ 0,01	0,26–0,47
Средний объем эритроцита, $\times 10^{-15}\text{л}$	67,8 $\pm$ 0,4	68,2 $\pm$ 0,4	68,4 $\pm$ 1,1	69,8 $\pm$ 1,0	66,0 $\pm$ 0,8	67,2 $\pm$ 0,8	67,6–77,5
Среднее содержание гемоглобина в эритроците, пг	22,8 $\pm$ 0,3	22,8 $\pm$ 0,3	22,9 $\pm$ 0,5	23,5 $\pm$ 0,4	22,0 $\pm$ 0,4	22,3 $\pm$ 0,4	18,7–26,0
Анизоцитоз эритроцитов, %	13,0 $\pm$ 0,2	13,2 $\pm$ 0,3	13,3 $\pm$ 0,4	13,1 $\pm$ 0,4	13,4 $\pm$ 0,3	13,6 $\pm$ 0,3	12,7–15,2
Тромбоциты, $\times 10^9/\text{л}$	308 $\pm$ 18	316 $\pm$ 26	418 $\pm$ 23	366 $\pm$ 60	292 $\pm$ 48	273 $\pm$ 27	155–619
Средний объем тромбоцитов, $\times 10^{-15}\text{л}$	9,7 $\pm$ 0,2	9,9 $\pm$ 0,3	9,0 $\pm$ 0,4	9,8 $\pm$ 0,3	9,5 $\pm$ 0,4	10,0 $\pm$ 0,5	8,0–14,8
СО ₂ , мм/ч	0,9 $\pm$ 0,1	0,9 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,1	1,5 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,1	1,1 $\pm$ 0,4	0,5–5,0

Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки, $n = 5$ для всех групп.

* референтные значения приведены по B.-S. Koo et al. [22].

Data are presented as mean and standard error, $n = 5$ for all groups.

* reference values are given based on B.-S. Koo et al. [22].

Таблица 4
Биохимические показатели сыворотки крови приматов

Table 4
Serum biochemical parameters in primates

Показатель	Группа I (контрольная)		Группа II (опытная)		Группа III (опытная)		Референтные значения*
	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта	в начале опыта	в конце опыта	
Глюкоза, ммоль/л	4,43 ± 0,44	3,32 ± 0,38	5,46 ± 0,78	3,68 ± 0,33	4,59 ± 0,46	6,73 ± 0,51 ^{a,b}	1,83–6,66
Общий билирубин, мкмоль/л	6,99 ± 2,74	6,98 ± 1,47	8,93 ± 2,77	4,16 ± 0,66	6,87 ± 5,11	10,38 ± 5,28	1,71–11,97
Фосфор, ммоль/л	1,17 ± 0,19	0,61 ± 0,12	0,88 ± 0,18	0,44 ± 0,14	1,33 ± 0,17	0,77 ± 0,17	1,06–2,13
Кальций, ммоль/л	2,56 ± 0,06	2,01 ± 0,17	2,47 ± 0,06	2,04 ± 0,10	2,65 ± 0,11	2,75 ± 0,12	1,75–2,45
Общий белок, г/л	89 ± 8	80 ± 2	86 ± 3	82 ± 5	104 ± 3 ^c	89 ± 3	39–78

Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки, $n = 5$ для всех групп.

* референтные значения приведены по B.-S. Koo et al. [22];

^a $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой;

^b $p < 0,05$ по сравнению с началом опыта;

^c $p < 0,05$ по сравнению со II опытной группой.

Data are presented as mean and standard error, $n = 5$ for all groups.

* reference values are given based on B.-S. Koo et al. [22];

^a $p < 0,001$ as compared to control group;

^b $p < 0,05$ as compared to the beginning of the experiment;

^c $p < 0,05$ as compared to experimental group II.

Клинический и биохимический анализы крови. Материалом для исследования служила венозная кровь и полученная из нее сыворотка. Образцы крови (2,5–3,0 мл) брали из локтевой либо из бедренной вены натошак до начала использования хлореллы и через 35 сут после завершения эксперимента. Цельную кровь стабилизировали раствором гепарина и проводили гематологический анализ на автоматическом анализаторе Coulter AcT 5diff CP (Beckman Coulter, США). Определяли уровень эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцитов, анизоцитоз эритроцитов. Скорость оседания эритроцитов (СОЭ) оценивали по методу Панченкова.

Сыворотку крови получали из венозной крови без антикоагулянтов, которую отстаивали в центрифужной стеклянной пробирке при температуре 15–20 °C до образования сгустка. Тонкой стеклянной палочкой осуществляли декантирование и центрифугировали в течение 10 мин при 1000–1500 g. Биохимический анализ (содержание общего белка, глюкозы, общего билирубина, кальция, фосфора) сывороток крови без гемолиза проводили в течение 2–3 ч после получения с помощью коммерческих наборов компании High Technology, Inc. (США) на полуавтоматическом анализаторе BioChem SA (High Technology, Inc., США) в соответствии с инструкциями производителя.

Статистический анализ. Полученные результаты обрабатывали статистически в программе GraphPad Prism 8.0 (США) 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 – $p < 0,05$ [20].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения в системе крови – один из первых признаков изменений, происходящих в организме в целом, что имеет важное диагностическое значение при алиментарных нарушениях [21]. Результаты проведенного гематологического анализа крови приматов представлены в таблице 3.

Установлено, что количество лейкоцитов в опытных группах незначительно превышало верхнюю границу референтных значений в начале эксперимента. В конце опыта значимых изменений уровня лейкоцитов не наблюдали. Количество эритроцитов и тромбоцитов было в пределах референтных значений во всех группах, как в начале, так и в конце опыта, без значимых отличий между группами. Уровень содержания гемоглобина и среднее содержание гемоглобина в эритроците не отличались между группами ни в начале, ни в конце опыта.

Значения СОЭ как в начале эксперимента, так и после применения хлореллы находились в пределах физиологической нормы. Установленные в крови уровни лейкоцитов и СОЭ свидетельствуют об отсутствии воспалительных процессов у подопытных животных, содержащихся и на стандартном, и на экспериментальных рационах.

Таким образом, при длительном использовании в рационе хлореллы в виде суспензии или сухого порошка в составе гранулированных комбикормов значимого изменения показателей гемограммы как между группами, так и относительно референтных значений выявлено не было.

Для оценки влияния хлореллы на обмен веществ определяли некоторые биохимические показатели сыворотки крови (табл. 4).

В начале опыта уровень глюкозы находился в пределах физиологической нормы во всех группах. В конце

Таблица 5
Коэффициенты переваримости

Table 5
Digestibility coefficients

Группы	Сырой протеин, %	Сырой жир, %	Сырая клетчатка, %	Сырая зола, %	Сырые БЭВ, %	Кальций, %	Фосфор, %
I (контрольная)	65,34 ± 1,04	38,09 ± 0,98	25,88 ± 1,01	41,58 ± 0,88	78,05 ± 1,12	44,37 ± 1,94	59,79 ± 2,01
II (опытная)	69,52 ± 0,95*	42,79 ± 0,79**	30,02 ± 0,90*	53,90 ± 1,00***	79,90 ± 2,03	53,66 ± 1,58**	60,51 ± 1,61
III (опытная)	72,17 ± 0,96***	40,70 ± 0,87	30,66 ± 1,12*	60,51 ± 1,21***	82,20 ± 2,03	58,17 ± 1,96***	67,86 ± 3,12

Данные получены путем усреднения пяти измерений для каждого животного и среднего значения для группы ($n = 5$).

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой. Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки.

Data obtained by averaging five measurements for each animal and the mean for the group ($n = 5$).

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ as compared to control group. Data are presented as mean and standard error.

эксперимента в опытной группе III после введения в структуру рациона сухой хлореллы уровень глюкозы статистически значимо увеличился до верхних значений физиологической нормы. Проведенный анализ коэффициента переваримости (табл. 5) для безазотистых экстрактивных веществ (БЭВ) свидетельствует об отсутствии статистически значимого увеличения ($p > 0,05$) поступления углеводов в организм животных группы II ($79,90 \pm 2,03\%$) по сравнению с контролем ($78,05 \pm 1,12\%$). Однако показатель переваримости БЭВ был наибольшим в группе III ($82,20 \pm 2,03\%$) по сравнению с контролем ($p > 0,05$). Известно, что хлорелла и ее компоненты обладают гипогликемическим действием [23, 24], а также могут увеличивать содержание глюкозы в крови животных [25]. Возможно, эффект зависит от доли хлореллы в рационе. Таким образом, требуются более детальные исследования влияния сухой хлореллы на углеводный обмен с оценкой его зависимости от дозы в рационе.

В начале эксперимента уровень билирубина, образующегося из гемоглобина в клетках печени желчного пигмента, находился в пределах референтных значений. В конце опыта среднее значение уровня билирубина в опытной группе III ($10,38 \pm 5,28$ мкмоль/л) относительно контрольной ($6,98 \pm 1,47$ мкмоль/л) было выше на 48%, однако статистической значимости различия не достигли ($p > 0,05$).

Уровень кальция и фосфора в крови животных всех трех групп в начале опыта находился в пределах референтных значений. К завершению эксперимента эти показатели статистически значимо не изменились, однако уровень фосфора был ниже границы референтного диапазона во всех группах (табл. 4), несмотря на более высокие коэффициенты усвояемости фосфора в группах II и III (табл. 5).

Уровень белка в крови животных как в начале, так и в конце эксперимента был выше референтных значений во всех группах (табл. 4). В начале опыта в группе III отмечено большее содержание белка сыворотки крови (104 ± 3 г/л) по сравнению с контрольной группой (89 ± 8 г/л, $p > 0,05$). Повышенный уровень белка сыворотки крови в группе II в начале опыта, вероятно, был транзиторным, не связанным с действием хлореллы в рационе животных.

Учет съеденных животными кормов за сутки, количества кала и анализ их химического состава по-

зволили определить коэффициенты переваримости питательных веществ в разных рационах (табл. 5). Данный показатель у приматов опытных групп был статистически значимо выше, чем у животных в контрольной группе. Так, в группе II, получавшей суспензию хлореллы, коэффициенты переваримости сырого протеина были выше на 4,18% ($p < 0,05$), сырого жира – на 4,70% ($p < 0,01$), сырой клетчатки – на 4,14% ($p < 0,05$), сырой золы – на 12,32% ($p < 0,001$). В группе III, где животным в структуру рациона включали порошок хлореллы, коэффициенты переваримости сырого протеина были выше на 6,83% ($p < 0,001$), сырой клетчатки – на 4,78% ($p < 0,05$), сырой золы – на 18,93% ($p < 0,001$).

Полученные данные свидетельствуют об улучшении переваримости ряда питательных веществ при введении в рацион приматов хлореллы (по сравнению с традиционным комбикормом), что согласуется с представленными в литературе результатами изучения усвояемости питательных веществ при включении микроводорослей *Chlorella vulgaris* в рацион бурских коз [25] и с ранее полученными нами данными по увеличению переваримости сырого протеина, сырой клетчатки и усвояемости кальция при обогащении рациона сухой хлореллой или ее суспензией [26]. Повышение переваримости сырого протеина, представляющего наиболее ценную часть корма, является наиболее важным результатом введения в рацион хлореллы [27].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование сухой хлореллы в структурах рационов приматов как заменителя высокопротеиновых кормов растительного и животного происхождения оказало положительное влияние на переваримость питательных веществ. При этом результаты гематологических анализов в целом свидетельствуют о безопасности длительного потребления хлореллы приматами (в течение 35 сут). Приготовление полнорационных гранулированных комбикормов с использованием порошка хлореллы позволяет сбалансировать рацион по питательным и биологически активным веществам. Подобными закономерностями характеризуется и использование суспензии хлореллы, в результате экспериментов с которой были отмечены лучшие показатели по переваримости, свидетельствующие о том, что применение суспензии этой зеленой

водоросли позволяет значительно повысить уровень обмена веществ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Liu J., Chen F. Biology and industrial applications of *Chlorella*: Advances and prospects. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2016; 153: 1–35. DOI: 10.1007/10_2014_286.
- Safi C., Zebib B., Merah O., Pontalier P.-Y., Vaca-Garcia C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2014; 35: 265–278. DOI: 10.1016/j.rser.2014.04.007.
- Panahi Y., Darvishi B., Jowzi N., Beiraghdar F., Sahebkar A. *Chlorella vulgaris*: A multifunctional dietary supplement with diverse medicinal properties. *Curr. Pharm. Des.* 2016; 22 (2): 164–173. DOI: 10.2174/1381612822666151112145226.
- Dvoretzky D., Dvoretzky S., Peshkova E., Temnov M. Optimization of the process of cultivation of microalgae *Chlorella vulgaris* biomass with high lipid content for biofuel production. *Chemical Engineering Transactions.* 2015; 43: 361–366. DOI: 10.3303/CET1543061.
- Yang B., Liu J., Jiang Y., Chen F. *Chlorella* species as hosts for genetic engineering and expression of heterologous proteins: Progress, challenge and perspective. *Biotechnol. J.* 2016; 11 (10): 1244–1261. DOI: 10.1002/biot.201500617.
- Шалыго Н. Микроводоросли и цианобактерии как биоудобрение. *Наука и инновации.* 2019; 3: 10–12. Режим доступа: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_37314804_36473977.pdf.
- Богданов Н. И. Суспензия хлореллы в рационе сельскохозяйственных животных. Пенза: НИЦ ПГУ; 2006. 54 с. eLIBRARY ID: 28340038.
- Barkia I., Saari N., Manning S. R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Mar. Drugs.* 2019; 17 (5):304. DOI: 10.3390/md17050304.
- Lin C.-Y., Huang P.-J., Chao C.-Y. *Chlorella* protects against hydrogen peroxide-induced pancreatic β -cell damage. *J. Med. Food.* 2014; 17 (12): 1273–1280. DOI: 10.1089/jmf.2013.3002.
- Kwak J. H., Baek S. H., Woo Y., Han J. K., Kim B. G., Kim O. Y., Lee J. H. Beneficial immunostimulatory effect of short-term *Chlorella* supplementation: enhancement of natural killer cell activity and early inflammatory response (randomized, double-blinded, placebo-controlled trial). *Nutr. J.* 2012; 11:53. DOI: 10.1186/1475-2891-11-53.
- Azocar J., Diaz A. Efficacy and safety of *Chlorella* supplementation in adults with chronic hepatitis C virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19 (7): 1085–1090. DOI: 10.3748/wjg.v19.i7.1085.
- Takekoshi H., Mizoguchi T., Komasa Y., Chubachi H., Inoue Y., Imanishi H., Nakano M. Suppression of glutathione S-transferase placental form-positive foci development in rat hepatocarcinogenesis by *Chlorella pyrenoidosa*. *Oncol. Rep.* 2005; 14 (2): 409–414. DOI: 10.3892/or.14.2.409.
- Reyna-Martinez R., Gomez-Flores R., López-Chuken U., Quintanilla-Licea R., Caballero-Hernandez D., Rodríguez-Padilla C., et al. Antitumor activity of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus* sp. microalgae native of Nuevo León State, México. *Peer J.* 2018; 6:e4358. DOI: 10.7717/peerj.4358.
- Wang X., Zhang X. Separation, antitumor activities, and encapsulation of polypeptide from *Chlorella pyrenoidosa*. *Biotechnol. Prog.* 2013; 29 (3): 681–687. DOI: 10.1002/btpr.1725.
- Nakano S., Takekoshi H., Nakano M. *Chlorella* (*Chlorella pyrenoidosa*) supplementation decreases dioxin and increases immunoglobulin a concentrations in breast milk. *J. Med. Food.* 2007; 10 (1): 134–142. DOI: 10.1089/jmf.2006.023.
- Гапонов Н. В., Гамко Л. Н., Ленкова Т. Н. Определение уровня биоактивности питательных веществ у приматов. *Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет).* 2020; 4: 65–72. DOI: 10.31677/2072-6724-2020-57-4-65-72.
- Шацких Е. В., Гафаров Ш. С., Бояринцева Г. Г., Сафронов С. Л. Использование кормовых добавок в животноводстве. Екатеринбург: УрГСХА; 2006. 100 с. eLIBRARY ID: 21222020.
- Овсянников А. И. Основы опытного дела в животноводстве. М.: Колос; 1976. 304 с.
- National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington: National Academies Press; 2011. 246 p. DOI: 10.17226/12910.
- Реброва О. Ю. Описание статистического анализа данных в оригинальных статьях. Типичные ошибки. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* 2010; 110 (11): 71–74. eLIBRARY ID: 16597037.
- Руководство для врачей. Под ред. Н. Н. Мамаева. 3-е изд., доп. и испр. СПб.: СпецЛит; 2019. 639 с.
- Koo B.-S., Lee D.-H., Kang P., Jeong K. J., Lee S., Kim K., et al. Reference values of hematological and biochemical parameters in young-adult cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) and rhesus monkey (*Macaca mulatta*) anesthetized with ketamine hydrochloride. *Lab. Anim. Res.* 2019; 35:7. DOI: 10.1186/s42826-019-0006-0.
- Jeong H., Kwon H. J., Kim M. K. Hypoglycemic effect of *Chlorella vulgaris* intake in type 2 diabetic Goto-Kakizaki and normal Wistar rats. *Nutr. Res. Pract.* 2009; 3 (1): 23–30. DOI: 10.4162/nrp.2009.3.1.23.
- Noguchi N., Konishi F., Kumamoto S., Maruyama I., Ando Y., Yanagita T. Beneficial effects of *Chlorella* on glucose and lipid metabolism in obese rodents on a high-fat diet. *Obes. Res. Clin. Pract.* 2013; 7 (2):e95–e105. DOI: 10.1016/j.orcp.2013.01.002.
- Kholif A. E., Hamdon H. A., Kassab A. Y., Farahat E. S. A., Azzaz H. H., Matloup O. H., et al. *Chlorella vulgaris* microalgae and/or copper supplementation enhanced feed intake, nutrient digestibility, ruminal fermentation, blood metabolites and lactational performance of Boer goat. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)* 2020; 104 (6): 1595–1605. DOI: 10.1111/jpn.13378.
- Gaponov N. V., Neverova O. P., Gorelik O. V., Stepanov A. V. Probiotics and animal feed in primates feeding. *E3S Web of Conferences. International Scientific and Practical Conference "Development of the Agro-Industrial Complex in the Context of Robotization and Digitalization of Production in Russia and Abroad" (DAIC 2020).* 2020; 222:02006. DOI: 10.1051/e3s-conf/202022202006.
- 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.

REFERENCES

- Liu J., Chen F. Biology and industrial applications of *Chlorella*: Advances and prospects. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2016; 153: 1–35. DOI: 10.1007/10_2014_286.
- Safi C., Zebib B., Merah O., Pontalier P.-Y., Vaca-Garcia C. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 2014; 35: 265–278. DOI: 10.1016/j.rser.2014.04.007.
- Panahi Y., Darvishi B., Jowzi N., Beiraghdar F., Sahebkar A. *Chlorella vulgaris*: A multifunctional dietary supplement with diverse medicinal properties. *Curr. Pharm. Des.* 2016; 22 (2): 164–173. DOI: 10.2174/1381612822666151112145226.
- Dvoretzky D., Dvoretzky S., Peshkova E., Temnov M. Optimization of the process of cultivation of microalgae *Chlorella vulgaris* biomass with high lipid content for biofuel production. *Chemical Engineering Transactions.* 2015; 43: 361–366. DOI: 10.3303/CET1543061.
- Yang B., Liu J., Jiang Y., Chen F. *Chlorella* species as hosts for genetic engineering and expression of heterologous proteins: Progress, challenge and perspective. *Biotechnol. J.* 2016; 11 (10): 1244–1261. DOI: 10.1002/biot.201500617.
- Shalygo M. Microalgae and cyanobacteria as a bio-fertilizer. *Science and Innovations.* 2019; 3: 10–12. Available at: https://www.elibrary.ru/download/elibrary_37314804_36473977.pdf. (in Russ.)
- Bogdanov N. I. Suspensiya khlorelly v ratsionе sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh = *Chlorella* suspension in the diet of livestock animals. Penza: NITs PGU; 2006. 54 p. eLIBRARY ID: 28340038. (in Russ.)
- Barkia I., Saari N., Manning S. R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Mar. Drugs.* 2019; 17 (5):304. DOI: 10.3390/md17050304.
- Lin C.-Y., Huang P.-J., Chao C.-Y. *Chlorella* protects against hydrogen peroxide-induced pancreatic β -cell damage. *J. Med. Food.* 2014; 17 (12): 1273–1280. DOI: 10.1089/jmf.2013.3002.
- Kwak J. H., Baek S. H., Woo Y., Han J. K., Kim B. G., Kim O. Y., Lee J. H. Beneficial immunostimulatory effect of short-term *Chlorella* supplementation: enhancement of natural killer cell activity and early inflammatory response (randomized, double-blinded, placebo-controlled trial). *Nutr. J.* 2012; 11:53. DOI: 10.1186/1475-2891-11-53.
- Azocar J., Diaz A. Efficacy and safety of *Chlorella* supplementation in adults with chronic hepatitis C virus infection. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19 (7): 1085–1090. DOI: 10.3748/wjg.v19.i7.1085.
- Takekoshi H., Mizoguchi T., Komasa Y., Chubachi H., Inoue Y., Imanishi H., Nakano M. Suppression of glutathione S-transferase placental form-positive foci development in rat hepatocarcinogenesis by *Chlorella pyrenoidosa*. *Oncol. Rep.* 2005; 14 (2): 409–414. DOI: 10.3892/or.14.2.409.
- Reyna-Martinez R., Gomez-Flores R., López-Chuken U., Quintanilla-Licea R., Caballero-Hernandez D., Rodríguez-Padilla C., et al. Antitumor activity of *Chlorella sorokiniana* and *Scenedesmus* sp. microalgae native of Nuevo León State, México. *Peer J.* 2018; 6:e4358. DOI: 10.7717/peerj.4358.
- Wang X., Zhang X. Separation, antitumor activities, and encapsulation of polypeptide from *Chlorella pyrenoidosa*. *Biotechnol. Prog.* 2013; 29 (3): 681–687. DOI: 10.1002/btpr.1725.
- Nakano S., Takekoshi H., Nakano M. *Chlorella* (*Chlorella pyrenoidosa*) supplementation decreases dioxin and increases immunoglobulin a concentrations in breast milk. *J. Med. Food.* 2007; 10 (1): 134–142. DOI: 10.1089/jmf.2006.023.
- Gaponov N. V., Gamko L. N., Lenkova T. N. Determination of the level of bioconversion of nutrients in primates. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University).* 2020; 4: 65–72. DOI: 10.31677/2072-6724-2020-57-4-65-72. (in Russ.)

17. Shatskikh E. V., Gafarov Sh. S., Boyarintseva G. G., Safronov S. L. Use of feed additives in animal husbandry. Ekaterinburg: Urals State Agricultural University; 2006. 100 p. eLIBRARY ID: 21222020. (in Russ.)
18. Ovsyannikov A. I. Osnovy opytnogo dela v zhivotnovodstve = Fundamentals of animal experiments. Moscow: Kolos; 1976. 304 p. (in Russ.)
19. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington: National Academies Press; 2011. 246 p. DOI: 10.17226/12910.
20. Rebrova O. Yu. Description of statistical analysis of data in original articles. Typical errors. Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii imeni S. S. Korsakova. 2010; 110 (11): 71–74. eLIBRARY ID: 16597037. (in Russ.)
21. Rukovodstvo dlya vrachei = A guide for doctors. Ed. by N. N. Mamaev. 3rd ed., revised and updated. Saint Petersburg: SpetsLit; 2019. 639 p. (in Russ.)
22. Koo B.-S., Lee D.-H., Kang P., Jeong K. J., Lee S., Kim K., et al. Reference values of hematological and biochemical parameters in young-adult cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) and rhesus monkey (*Macaca mulatta*) anesthetized with ketamine hydrochloride. Lab. Anim. Res. 2019; 35:7. DOI: 10.1186/s42826-019-0006-0.
23. Jeong H., Kwon H. J., Kim M. K. Hypoglycemic effect of *Chlorella vulgaris* intake in type 2 diabetic Goto-Kakizaki and normal Wistar rats. Nutr. Res. Pract. 2009; 3 (1): 23–30. DOI: 10.4162/nrp.2009.3.1.23.
24. Noguchi N., Konishi F., Kumamoto S., Maruyama I., Ando Y., Yanagita T. Beneficial effects of *Chlorella* on glucose and lipid metabolism in obese rodents on a high-fat diet. Obes. Res. Clin. Pract. 2013; 7 (2):e95–e105. DOI: 10.1016/j.orcp.2013.01.002.
25. Kholif A. E., Hamdon H. A., Kassab A. Y., Farahat E. S. A., Azzaz H. H., Matloup O. H., et al. *Chlorella vulgaris* microalgae and/or copper supplementation enhanced feed intake, nutrient digestibility, ruminal fermentation, blood metabolites and lactational performance of Boer goat. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.) 2020; 104 (6): 1595–1605. DOI: 10.1111/jpn.13378.
26. Gaponov N. V., Neverova O. P., Gorelik O. V., Stepanov A. V. Probiotics and animal feed in primates feeding. E3S Web of Conferences. International Scientific and Practical Conference "Development of the Agro-Industrial Complex in the Context of Robotization and Digitalization of Production in Russia and Abroad" (DAIC 2020). 2020; 222:02006. DOI: 10.1051/e3s-conf/202022202006.
27. 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.

Поступила в редакцию / Received 20.04.2021

Доработана после рецензирования / Revised 01.06.2021

Принята к публикации / Accepted 31.08.2021

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гапонов Николай Васильевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Российская Федерация.

Панченко Алла Вячеславовна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Российская Федерация.

Панченко Андрей Владимирович, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Российская Федерация.

Чугуев Юрий Петрович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФГБНУ «НИИ МП», г. Сочи, Российская Федерация.

Nikolay V. Gaponov, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, FSBSI "SRI MP", Sochi, Russia.

Alla V. Panchenko, Candidate of Science (Medical), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology, FSBSI "SRI MP", Sochi, Russia.

Andrey V. Panchenko, Doctor of Science (Medical), Chief Researcher, Laboratory of Molecular Biology, FSBSI "SRI MP", Sochi, Russia.

Yuri P. Chuguev, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, FSBSI "SRI MP", Sochi, 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 проведении учебных
мероприятий в декабре 2021 г.:**

- 9 декабря – обучение на тему «Актуальные вопросы профилактики и ликвидации очагов африканской чумы свиней» в режиме вебинара. Продолжительность мероприятия – 4 академических часа. Стоимость обучения 1 слушателя – 2000,00 руб., включая НДС;
- 15 декабря – обучающий вебинар «Эпизоотология, клинические и патолого-анатомические признаки, диагностика, профилактика и меры борьбы с контагиозной плевропневмонией КРС и чумой мелких жвачных животных в современных условиях». Продолжительность мероприятия – 4 академических часа. Стоимость обучения 1 слушателя – 2000,00 руб., включая НДС.

Образовательная деятельность осуществляется на основании лицензии от 03.08.2011 № 001671 (регистрационный номер 1603), выданной Федеральной службой по надзору в сфере образования и науки.

Обучение проводят ведущие научные сотрудники ФГБУ «ВНИИЗЖ». По завершении обучения выдается сертификат об участии в вебинаре.

**Подробная информация о порядке
зачисления на обучение размещена
на сайте ФГБУ «ВНИИЗЖ»
<http://www.arriah.ru> в разделе «Участие
в обучающих вебинарах и семинарах».**

Заявки на участие в вебинаре просим направлять по адресу: mail@arriah.ru.

Контактное лицо в ФГБУ «ВНИИЗЖ»:

Демидова Маргарита Федоровна,
тел.: +7 (4922) 52-99-62;
+7 (4922) 26-15-12 (доб. 21-11);
e-mail: demidova@arriah.ru.

ИНФОРМИРУЕТ

**о переносе даты проведения конференции
на 22–23 марта 2022 г.**

в связи со сложной текущей эпидемической ситуацией и запретом массовых мероприятий

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 22–23 марта 2022 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 декабря 2021 г. по адресу nikeshina@arriah.ru:

- заявку на участие в конференции;
- научную статью для публикации (требования к оформлению размещены на сайте ФГБУ «ВНИИЗЖ»);
- 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. 22-27), e-mail: nikeshina@arriah.ru
тел. +7 (4922) 26 15 12 (доб. 25-01), e-mail: guseva_ey@arriah.ru