



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

ИЮНЬ | JUNE

ТОМ 11 № 2 2022

SCIENTIFIC JOURNAL

АФРИКАНСКАЯ ЧУМА СВИНЕЙ

через сто лет

стр. 99



Плотность популяции дикого
кабана и распространение
африканской чумы свиней
в Российской Федерации

стр. 104

Сортировка клеток,
инфицированных вирусом
африканской чумы свиней,
методом проточной цитометрии

стр. 114

Морфологические особенности
плаценты крупного рогатого скота
при вирусных, бактериальных
и протозойных инфекциях

стр. 121

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

ИЮНЬ ТОМ 11 № 2 2022

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

QUARTERLY SCIENTIFIC JOURNAL

JUNE VOLUME 11 No. 2 2022

Published since 2012

Журнал «Ветеринария сегодня»

включен в Перечень рецензируемых научных изданий (ВАК):

1.5.10 – Вирусология (ветеринарные науки),

4.2.3 – Инфекционные болезни и иммунология животных (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: Груздев Константин Николаевич — доктор биологических наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>; [AuthorID: 304722](https://orcid.org/0000-0003-3159-1969); [Scopus Author ID: 6506731135](https://orcid.org/0000-0003-3159-1969) e-mail: gruzdev@arriah.ru; тел.: 8 (4922) 45-37-96

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; <https://orcid.org/0000-0002-0959-5915>; Тел: 8 (4922) 26-15-12, доб. 22-27

Фото на обложке: David & Micha Sheldon / TASS

Редакционная коллегия:

Болдбаатар Базарцэрэн — PhD в области ветеринарии, Институт ветеринарной медицины, г. Улан-Батор, Монголия; [Scopus Author ID: 26634733300](https://orcid.org/0000-0003-3159-1969)

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>; [AuthorID: 285556](https://orcid.org/0000-0003-0786-5317); [ResearcherID: K-9491-2015](https://orcid.org/0000-0003-0786-5317)

Гловат Александр Гаврилович — д-р вет. наук, профессор, ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агроботехнологий РАН», г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2006-0196>; [AuthorID: 236129](https://orcid.org/0000-0002-2006-0196); [Scopus Author ID: 7004340265](https://orcid.org/0000-0002-2006-0196)

Гринь Светлана Анатольевна — д-р биол. наук, профессор, член-корреспондент РАН, ФГБУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», г. Щелково, Россия; [AuthorID: 563647](https://orcid.org/0000-0002-2006-0196)

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>; [AuthorID: 112679](https://orcid.org/0000-0002-7489-6175); [Scopus Author ID: 56114346900](https://orcid.org/0000-0002-7489-6175); [ResearcherID: V-4640-2017](https://orcid.org/0000-0002-7489-6175)

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>; [AuthorID: 91643](https://orcid.org/0000-0001-7635-2596); [Scopus Author ID: 6507196549](https://orcid.org/0000-0001-7635-2596); [ResearcherID: V-7959-2017](https://orcid.org/0000-0001-7635-2596)

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](https://orcid.org/0000-0002-4641-4757)

Кузьмина 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. Вышеслесского», г. Минск, Беларусь; <https://orcid.org/0000-0002-9611-8286>; [Scopus Author ID: 55996656700](https://orcid.org/0000-0002-9611-8286); [ResearcherID: AAE-5001-2019](https://orcid.org/0000-0002-9611-8286)

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](https://orcid.org/0000-0002-8464-6380)

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

Метлин Артем Евгеньевич — доктор ветеринарных наук, г. Вена, Австрия, e-mail: metlin@arriah.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>; [Scopus Author ID: 6505942586](https://orcid.org/0000-0002-4283-0171); [ResearcherID: Z-2189-2019](https://orcid.org/0000-0002-4283-0171)

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](https://orcid.org/0000-0003-3751-2168)

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>; [AuthorID: 66095](https://orcid.org/0000-0002-3643-3129); [Scopus Author ID: 7004534956](https://orcid.org/0000-0002-3643-3129)

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](https://orcid.org/0000-0001-7581-7478)

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](https://orcid.org/0000-0002-3981-0882)

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](https://orcid.org/0000-0002-6240-3062)

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](https://orcid.org/0000-0002-9560-0724)

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>; [AuthorID: 116034](https://orcid.org/0000-0003-3560-5045); [Scopus Author ID: 6506749368](https://orcid.org/0000-0003-3560-5045); [ResearcherID: D-3777-2014](https://orcid.org/0000-0003-3560-5045)

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](https://orcid.org/0000-0003-0402-3173)

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](https://orcid.org/0000-0003-3560-5045)

Сисягин Павел Николаевич — д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, г. Нижний Новгород, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1085-220X>

Соколов 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](https://orcid.org/0000-0002-9611-8286)

Субботин Александр Михайлович — д-р биол. наук, профессор, заместитель Премьер-министра Республики Беларусь, г. Минск, Беларусь; [AuthorID: 4709795](https://orcid.org/0000-0002-9611-8286)

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](https://orcid.org/0000-0002-9611-8286)

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](https://orcid.org/0000-0002-1659-3256)

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>

Шкуртатова Ирина Алексеевна — д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, Уральский НИВИ — структурное подразделение ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>; [AuthorID: 482688](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 RSC 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 ООО «УралПресс Стандарт»: 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: 8 июня 2022 года
Дата выхода в свет: 27 июня 2022 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: Konstantin N. Gruzdev – Dr. Sci. (Biology), Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>; AuthorID: 304722; Scopus Author ID: 6506731135; e-mail: gruzdev@arriah.ru; Tel.: +7 (4922) 45-37-96

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; <https://orcid.org/0000-0002-0959-5915>; Tel.: +7 (4922) 26-15-12, ext. 22-27

Cover photo: David & Micha Sheldon / TASS

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>; AuthorID: 285556; 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>; AuthorID: 236129; 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

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>; AuthorID: 112679; 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>; AuthorID: 91643; 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. Vyshesky, 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>

Artem Ye. Metlin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Vienna, Austria, e-mail: metlin@arriah.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>; Scopus Author ID: 6505942586; ResearcherID: Z-2189-2019

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>; AuthorID: 66095; 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. Rusaleyev – 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>; AuthorID: 116034; 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, Ural Research Veterinary Institute – FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Yekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>; AuthorID: 482688

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 Frolovseva, 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: June 08, 2022
Issued: June 27, 2022

Creative Commons
Attribution 4.0 License



18+

Содержание

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

- 99** Африканская чума свиней через сто лет
В. В. Макаров

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

- 104** Плотность популяции дикого кабана и распространение африканской чумы свиней в Российской Федерации
О. И. Захарова, А. А. Блохин, Н. Н. Торопова, О. А. Бурова, И. В. Яшин, Ф. И. Коренной
- 114** Сортировка клеток, инфицированных вирусом африканской чумы свиней, методом проточной цитометрии
А. С. Першин, И. В. Шевченко, Т. Н. Комова, Али Мазлум, Н. Н. Власова, Е. О. Морозова, А. С. Иголкин, К. Н. Груздев

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

- 121** Морфологические особенности плаценты крупного рогатого скота при вирусных, бактериальных и протозойных инфекциях
О. В. Соколова, Л. И. Дроздова, И. А. Шкуратова
- 129** Применение препарата «Кутикулин» для лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний у телят и поросят
М. В. Корюкина, В. Н. Макарова, О. Б. Бадеева, И. Н. Симанова
- 135** Состояние биохимического профиля крови и уровня эндогенной интоксикации у коров с гепатопатиями в условиях теплового стресса
Е. В. Кузьминова, Е. Н. Рудь, М. П. Семененко, А. А. Абрамов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

- 142** Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни на территории Российской Федерации в 2020 г.
М. А. Кулагина, М. А. Волкова, Ир. А. Чвала, О. С. Осипова, П. С. Ярославцева, Д. Б. Андрейчук, И. А. Чвала

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БИОТЕХНОЛОГИЯ

- 149** Определение репродуктивных свойств вируса классической чумы свиней вирулентных и вакцинных штаммов в первичных и перевиваемых культурах клеток
И. С. Колбин, А. С. Иголкин, В. Л. Гаврилова, О. С. Пузанкова, Е. В. Аронова, А. А. Елсукова, Н. Н. Власова
- 156** Влияние сыворотки крови крупного рогатого скота на ростовые свойства питательной среды для культивирования *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*
Д. А. Козлов, М. С. Волков, Т. Ю. Черняева, М. И. Сорокина, В. Н. Ирза
- 163** Криоконсервирование первично трипсинизированных клеток фибробластов эмбрионов кур с использованием разных криопротекторов
С. П. Лазарева, Б. Л. Манин, Н. С. Мудрак, Д. Б. Андрейчук

ОБЗОРЫ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

- 169** Эффективность и безопасность лекарственных препаратов при лечении экспериментальных и спонтанных микоплазменных инфекций
В. А. Агольцов, Л. П. Падило, О. П. Бирюкова, М. М. Лигидова
- 176** Биологические особенности коронавирусов сельскохозяйственных, домашних животных и птиц: сравнительная оценка характера вызываемых ими патологических процессов (обзор)
Х. З. Гаффаров, А. И. Яруллин, В. Г. Гумеров, И. Г. Каримуллина

РЕЦЕНЗИИ

- 186** Рецензия на учебное пособие «Оспа овец и оспа коз». А. В. Кононов, О. П. Бьядовская, К. А. Шалина, А. В. Спрыгин, **В. И. Диев**.
Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2021. 46 с. ISBN 978-5-900026-78-7
Т. И. Глотова
- 187** Рецензия на учебно-методическое пособие «Африканская чума свиней». А. С. Иголкин, К. Н. Груздев.
Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2021. 126 с. ISBN 978-5-900026-79-4
О. А. Верховский
- 188** Рецензия на учебно-методическое пособие «Африканская чума свиней». А. С. Иголкин, К. Н. Груздев.
Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2021. 126 с. ISBN 978-5-900026-79-4
А. Н. Чернов

Contents

REVIEWS | PORCINE DISEASES

- 99 African swine fever: one hundred years later
V. V. Makarov

ORIGINAL ARTICLES | PORCINE DISEASES

- 104 Density of wild boar population and spread of African swine fever in the Russian Federation
O. I. Zakharova, A. A. Blokhin, N. N. Toropova, O. A. Burova, I. V. Yashin, F. I. Korennoy
- 114 Flow cytometry sorting of cells infected with African swine fever virus
A. S. Pershin, I. V. Shevchenko, T. N. Komova, Ali Mazloun, N. N. Vlasova, E. O. Morozova, A. S. Igolkin, K. N. Gruzdev

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 121 Morphological features of bovine placenta in case of viral, bacterial and protozoal infections
O. V. Sokolova, L. I. Drozdova, I. A. Shkuratova
- 129 The use of Kutikulin for treatment and prevention of gastrointestinal diseases in calves and piglets
M. V. Koryukina, V. N. Makarova, O. B. Badeeva, I. N. Simanova
- 135 Biochemical blood parameters and level of endogenous intoxication in cows suffering from hepatopathies under heat stress
E. V. Kuzminova, E. N. Rud, M. P. Semenenko, A. A. Abramov

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

- 142 Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2020
M. A. Kulagina, M. A. Volkova, Ir. A. Chvala, O. S. Osipova, P. S. Yaroslavtseva, D. B. Andreychuk, I. A. Chvala

ORIGINAL ARTICLES | BIOTECHNOLOGY

- 149 Determination of reproductive properties of virulent and vaccine classical swine fever virus strains in primary and continuous cell cultures
I. S. Kolbin, A. S. Igolkin, V. L. Gavrilova, O. S. Puzankova, Ye. V. Aronova, A. A. Yelsukova, N. N. Vlasova
- 156 Influence of bovine blood serum on growth properties of nutrient media for *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* cultivation
D. A. Kozlov, M. S. Volkov, T. Yu. Chernyayeva, M. I. Sorokina, V. N. Irza
- 163 Cryopreservation of primary trypsinized fibroblast cells of chicken embryos using various cryoprotectants
S. P. Lazareva, B. L. Manin, N. S. Mudrak, D. B. Andreychuk

REVIEWS | GENERAL ISSUES

- 169 Effectiveness and safety of therapeutics used for treatment of experimental or spontaneous *Mycoplasma* infections
V. A. Agoltsov, L. P. Padilo, O. P. Biryukova, M. M. Ligidova
- 176 Biological properties of coronaviruses of farm, domestic animals and birds: comparative characterization of pathology they induce (review)
Kh. Z. Gaffarov, A. I. Yarullin, V. G. Gumerov, I. G. Karimullina

PEER REVIEWS

- 186 Peer-review of study guide "Sheep pox and goat pox". A. V. Kononov, O. P. Byadovskaya, K. A. Shalina, A. V. Sprygin, V. I. Diev. Vladimir: FGBI "ARRIAH", 2021. 46 p.: fig. ISBN 978-5-900026-78-7
T. I. Glotova
- 187 Peer-review of study guide "African swine fever". A. S. Igolkin, K. N. Gruzdev. Vladimir: FGBI "ARRIAH", 2021. 126 p.: fig. ISBN 978-5-900026-79-4
O. A. Verkhovsky
- 188 Peer-review of study guide "African swine fever". A. S. Igolkin, K. N. Gruzdev. Vladimir: FGBI "ARRIAH", 2021. 126 p.: fig. ISBN 978-5-900026-79-4
A. N. Chernov

Поздравление с Днем России

Уважаемые читатели! Примите искренние поздравления с главным государственным праздником – Днем России!

Этот праздник символизирует национальное единение и нашу общую ответственность за настоящее и будущее страны. 12 июня – знаменательный день для всех, кто является настоящим патриотом, гордится многовековой историей своей страны, духовным и культурным наследием, неустанно трудится ради ее процветания.

День России – это праздник любви и уважения к Родине, символ национального единства. Для каждого человека Родина начинается там, где он родился, где живет, учится и работает. От всех нас, от наших общих усилий и действий, интеллектуальных и творческих достижений зависят настоящее и будущее страны. Только совместными усилиями мы сможем преодолеть любые испытания и добиться еще более высоких результатов.

В этот торжественный день каждый из нас чувствует особую гордость за нашу великую державу и наших соотечественников.

Позвольте пожелать вам в этот праздничный день здоровья и успеха в достижении поставленных целей. Пусть вас окружают уют и достаток, счастье и взаимопонимание, сопровождают мир, согласие и уверенность в завтрашнем дне, а щедрость российской земли принесет процветание и благополучие.



Желаю успешного развития каждой сферы деятельности как самой России, так и всех ее граждан. Пусть в душе каждого россиянина будет место для любви к своей Родине, а сила духа предков принесет развитие и даст силы для великих достижений и веру в прекрасное будущее.

Директор ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Р. Н. Рыбин



*По ходу работы я неожиданно обнаружил ряд областей,
которые до сих пор серьезно не обсуждались...*

Френк Бернет

Африканская чума свиней через сто лет

В. В. Макаров

ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), Москва, Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>, e-mail: vvm-39@mail.ru

РЕЗЮМЕ

В кратком сообщении воздается должное Роберту Юстасу Монтгомери (1880–1932), с именем которого связано открытие африканской чумы свиней. Сто лет назад им опубликован масштабный отчет об исследованиях этого нового особо опасного заболевания, проведенных в 1900–1917 гг. в Восточной Африке. Установлены и описаны основополагающие положения — этиологическая, иммунологическая и нозологическая самостоятельность данной инфекции, фатальная восприимчивость домашних свиней, клиника и патоморфология, вирусная этиология, природный резервуар и источник заражения, устойчивость вируса вне организма, многие частные элементы эпизоотологии. Применительно к текущей ситуации на основании высокой публикационной активности сделано заключение о чрезвычайном массиве разносторонних исследований по африканской чуме свиней. GAP-анализ (анализ пробелов, Gap analysis), выполненный большим коллективом европейских ученых и специалистов, позволил определить наиболее проблемные вопросы: дикие кабаны, выживание после африканской чумы свиней и трансмиссия, биобезопасность и надзор. Помимо отмеченных в этих выводах и рекомендациях, серьезные пробелы существуют в иммунологии африканской чумы свиней, в частности, относительно механизмов протективного иммунитета, взаимодействия вирус — макрофаг, фенотипических признаков вируса *in vitro*, коррелирующих с вирулентностью, и другие. Очевидно, что без решения этих вопросов вряд ли возможно рассчитывать на получение вакцин против африканской чумы свиней и особенно на их профилактическую и противоэпизоотическую эффективность в общепринятом понимании.

Ключевые слова: обзор, Р. Ю. Монтгомери, африканская чума свиней, текущая пандемия, GAP-анализ

Для цитирования: Макаров В. В. Африканская чума свиней через сто лет. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 99–103. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-99-103.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

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

African swine fever: one hundred years later

V. V. Makarov

People's Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia,
<https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>, e-mail: vvm-39@mail.ru

SUMMARY

This brief report pays tribute to Robert Eustace Montgomery (1880–1932) whose name is associated with the discovery of African swine fever (ASF). A hundred years ago, he published a major report on study of new highly dangerous disease carried out in 1900–1917 in the East Africa. The infection fundamentals have been established and described — the etiological, immunological and nosological uniqueness of the infection, fatal susceptibility of domestic pigs, clinical signs and pathomorphology, viral etiology, natural reservoir and source of the infection, survival of the virus outside the body, many specific epizootological aspects. Taking into account current high publication activity it has been concluded that there is a large body of multi-faceted research focused on African swine fever. Gap analysis carried out by the large team of the European researchers and experts revealed the most challenging aspects — wild boars, ASF survival and transmission, biosecurity and surveillance. In addition to the gaps mentioned in these conclusions and recommendations there are serious gaps in African swine fever immunology, namely in protective immunity mechanisms, virus-macrophage interaction, *in vitro* virus phenotypic signs correlating with its virulence, etc. Evidently, it is hardly possible to expect development of anti-ASF vaccines and particularly the vaccines capable of preventing and effectively protecting against ASF epizooty according to the general understanding without addressing these issues.

Keywords: review, R. Eu. Montgomery, African swine fever, current panzooty, Gap analysis

For citation: Makarov V. V. African swine fever: one hundred years later. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 99–103. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-99-103.

Conflict of interest: The author declares 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.

Роберт Юстас Монтгомери (1880–1932) – выдающийся ветеринарный врач и патолог, исследователь экзотических болезней периода первых открытий (фото 1) – сто лет назад опубликовал результаты масштабных наблюдений и экспериментов по африканской чуме свиней (фото 2).

Как следует из Библиографической базы данных южноафриканской науки [1], Р. Монтгомери окончил в 1903 г. Королевский ветеринарный колледж в Эдинбурге (Шотландия). После специальной службы в Индии и Канаде в 1907 г. Ливерпульская школа тропической медицины направила его для изучения сонной болезни (зооноз, серьезное заболевание людей и домашних животных) в Центральной Африке. Результаты его исследования были опубликованы в нескольких статьях в *Annals of Tropical Medicine* (1908–1909). В 1909 г. он был назначен патологом в Восточноафриканский протекторат и в том же году принял участие в Panafrican Veterinary Congress, состоявшемся в Претории по случаю официального открытия Института ветеринарных исследований в Ондерстепорте, где представил доклад «Трипаномы и их передача в Южной Африке», опубликованный затем в *Proceeding of the Rhodesia Scientific Association*. Снова посетил Южную Африку в 1912 г. в связи с иммунизацией крупного рогатого скота против лихорадки Восточного побережья. Во время Первой мировой войны (1914–1918) служил в звании майора Восточноафриканского ветеринарного корпуса. В 1917 г. Р. Монтгомери основал ветеринарный институт в г. Кабет (Кения), а в 1918 г. занял пост директора ветеринарных исследований Южно-Африканского Союза. В 1920–1921 гг. он был первым президентом Южноафриканской ассоциации ветеринарной медицины. В период с 1923 по 1926 г. Р. Монтгомери являлся ветеринарным советником правительств Кении, Уганды, Танганьики, а с 1930 г. – в том же качестве в Управлении по делам колоний.

Поистине фундаментальный вклад в ветеринарную науку и практику Р. Монтгомери связан с открытием африканской чумы свиней (АЧС) и обобщением многолетнего изучения этого абсолютно нового для науки заболевания и целого ряда связанных с ним явлений, таких как эпизоотология экзотических инфекций диких животных, их резервуарная роль, природная очаговость, нетривиальных для начала XX в. Как свидетельствует современная обстановка, вклад действительно эпохальный¹. Подробный итоговый отчет о работе по АЧС Ветеринарной лаборатории Найроби (Кения), начатой с 1900 г., был составлен им в 1917 г., но публикация оказалась возможной только через четыре года из-за объективных причин (война, смена мест работы) [1, 3, 4].

В масштабной статье из двух частей [3] Р. Монтгомери дал приоритетное изложение признаков неизвестной



Фото 1. Р. Ю. Монтгомери [1]

Photo 1. R. E. Montgomery [1]

THE
JOURNAL OF
COMPARATIVE PATHOLOGY
AND
THERAPEUTICS.

Vol. XXXIV.—No. 3. SEPTEMBER 30, 1921. PRICE 3s. 6d.

ON A FORM OF SWINE FEVER OCCURRING IN
BRITISH EAST AFRICA (KENYA COLONY).¹

By R. EUSTACE MONTGOMERY, Veterinary Adviser to the Government of Uganda, formerly Veterinary Pathologist to the East Africa Protectorate.

Фото 2. Метрический отпечаток исторической публикации по африканской чуме свиней [2]

Photo 2. Reprint of the historical publication on African swine fever [2]

болезни, возникавшей при первых попытках хозяйственного разведения белыми поселенцами привозимых из метрополий свиней европейских пород для домашнего потребления или производства свинины. Случаи заболевания, очень сходного с хорошо известной в Европе классической чумой свиней (КЧС), были официально зарегистрированы на нескольких фермах в Британской Восточной Африке и, предположительно, имели более широкое, эпизоотическое распространение.

Описаны клиника и патоморфология естественной и экспериментальной инфекции, установлены природный резервуар и источник заражения – местные дикие

¹ В честь него второе название АЧС – *болезнь Монтгомери*.

свиньи-бородавочники *Phacochoerus africanus*, у которых состояние зараженности протекало персистентно и без манифестации, а также выявлена длительная сохраняемость инфекционного агента вне организма и в трупах. Оказалось, что домашние свиньи фатально восприимчивы к парентеральному заражению кровью бородавочников, но инфекция не передавалась при контакте с ними и аэрогенно, что интерпретировано как признак устойчивости резервантов и уже тогда указывало на низкую контагиозность АЧС².

Опыты по кросс-инфицированию свиней, иммунных к КЧС, и пассивной защите от заражения иммунной сывороткой против КЧС, результативно и повсеместно применяемой в то время для симультанных прививок в свиноводстве, свидетельствовали, что изучаемое заболевание действительно новое. Сыворотки крови диких свиней также не обладали никакой эффективностью, т. е. принципиальный факт отсутствия гуморальной защиты при АЧС стал известен уже тогда. Никакого эффекта не дала попытка иммунизации инфекционным материалом, инактивированным нагреванием.

Новая инфекция была окончательно определена как самостоятельная нозологическая форма под названием *восточноафриканская чума свиней* в 1910 г. Характеристики АЧС, вируса-возбудителя, основ иммунологии, эпизоотологии в последующие годы и вплоть до современных исследований развивают эти фундаментальные сведения по проблеме, подтверждая положения выдающейся работы Р. Монтгомери [1, 3, 4].

На этом фоне современная панзоотия и обусловленная этим известная патовая ситуация, несомненно, требует экстраординарных решений. Согласно анализу базы данных PubMed³ [5], глобальная публикационная активность по проблеме АЧС, необычайно активизированная в последние годы (рис. 1), естественно отражает как чрезвычайный научный интерес, так и масштабы исследований.

В общую работу вовлечены многочисленные международные учреждения и специально созданные ассоциации, главные роли в которых принадлежат Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) и Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО). Следует отметить активную деятельность EMPRES (Система предупреждения эмерджентных инфекций животных и растений, ФАО), GF-TADs (Глобальная рамочная программа для борьбы с трансграничными болезнями животных, ФАО), GARA (Глобальный альянс по изучению АЧС, США), Stop ASF (Программа государственного и частного партнерства, ФАО/МЭБ), EFSA (Европейское управление по безопасности пищевых продуктов, ЕС), VACDIVA (Программа по разработке эффективной вакцины против АЧС Фонда ЕС Horizon 2020), где каждая организация объединяет и координирует исследования от нескольких десятков до свыше полутора сотен участников (лабораторий и институтов). Результативность научно-исследовательских работ подробнейшим образом обсуждается

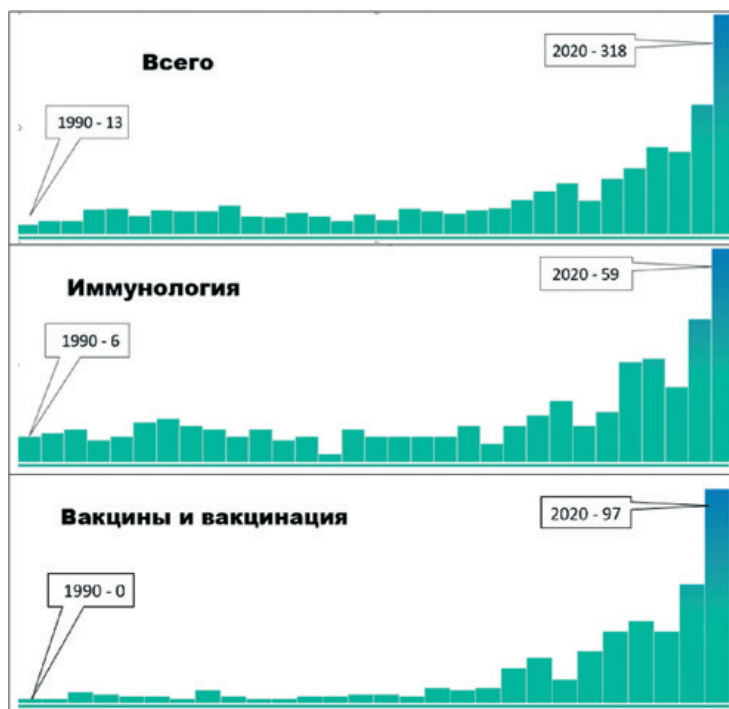


Рис. 1. Тридцатилетняя динамика ежегодных полнотекстовых публикаций по ключевым направлениям проблемы АЧС (в выносках) [5]

Fig. 1. Thirty-year dynamics of annual full-text publications on key ASF aspects (in call-outs) [5]

и оценивается с выработкой согласованных мнений и решений на систематических научных мероприятиях и вебинарах⁴. Данные освещаются в изданиях широкого спектра. Особенно интересна деятельность EFSA Panel On Animal Health and Welfare (Группа EFSA по здравоохранению и благосостоянию животных, ANAW) и обширные систематические публикации отчетно-аналитического порядка в *EFSA Journal* (например, [6]).

В частности, важные результаты получены при осуществлении так называемого GAP-анализа (анализа пробелов)⁵ управления краткосрочными рисками в контроле АЧС, недавно выполненного большим коллективом авторитетных ученых и специалистов в связи с растущим неблагополучием европейских стран-участников, научные выводы по которому опубликованы в указанном издании [5]. Своевременность применения этой методологии очевидно оправдана стремительно нарастающим стихийным массивом бессистемных публикаций, не сопровождающихся пока сколь-нибудь существенной противоэпизоотической эффективностью.

⁴ В качестве примера можно привести недавний общедоступный семинар VACDIVA: First International Workshop for the Pig Sector, 1st October 2021.

⁵ GAP-анализ (Gap Analysis), или анализ пробелов, – это метод (или процесс) стратегического анализа, в котором сравниваются фактические результаты с ожидаемыми для выявления проблемных мест: неоптимальных или отсутствующих направлений, структур, возможностей, процессов, методов, технологий, навыков – и выдачи рекомендаций, которые помогут исправить ситуацию и достичь поставленных целей. В отличие от оценки рисков, которая ориентирована на перспективу, объектом GAP-анализа является текущее состояние [7]. Общеизвестно, что GAP-анализ в последнее время активно применяется в современной деятельности МЭБ по повышению эффективности национальных ветеринарных служб (PVS Pathway).

² Вопрос, дискутируемый некоторыми спикерами до последнего времени. По современным представлениям такой тип отношений между патогеном и хозяином квалифицируется как *персистентная толерантная инфекция*.

³ PubMed® – крупнейшая текстовая база медицинских и биологических публикаций, созданная Национальным центром биотехнологической информации США, содержащая более 33 миллионов ссылок на научную литературу (журналы, книги и др. издания) [5].

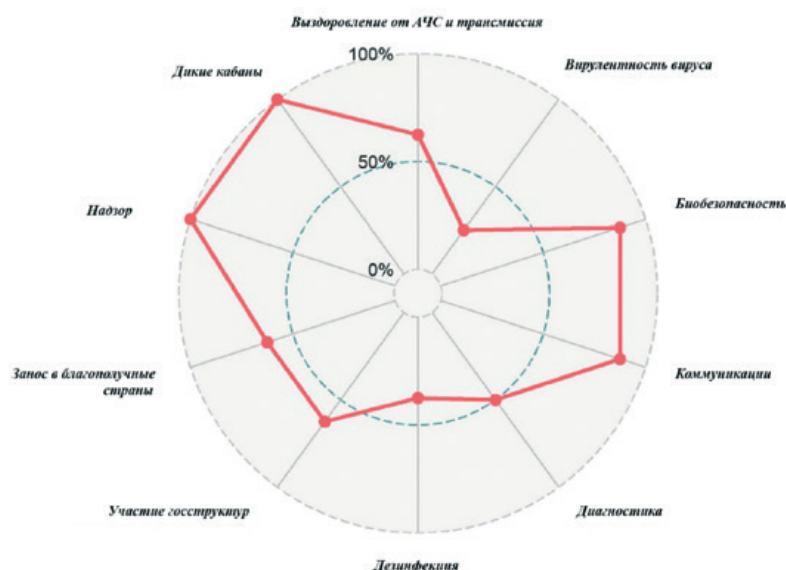


Рис. 2. Приоритетность актуальных вопросов, выявленных GAP-анализом (процентное соотношение) [6]

Fig. 2. Prioritization of currently important aspects identified by the Gap analysis, in percentage [6]

Поскольку методология GAP-анализа основывается на экспертном мнении лиц, интересы которых любым образом связаны с решаемой задачей, в целях объективности были привлечены респонденты самого широкого спектра специализаций: от свиноводов, охотников, ветеринарных врачей до работников высокого директивного уровня и всех возможных государственных и частных категорий, вовлеченных в ситуацию с АЧС, – национальных ветеринарных служб и министерств сельского хозяйства, Европейской ветеринарной ассоциации, фермерских, охотничьих организаций, агробизнеса, охраны природы и природопользования, администраций и т. п. с учетом эпизоотического статуса представляемых территорий (неблагополучные впервые или эндемичные, угрожаемые, благополучные).

Для экспертной оценки актуальности на основе тотального анализа результатов, публикуемых во всем мире, был сформулирован ряд злободневных вопросов, охватывающий важнейшие на сегодня направления науки и практики в контексте неконтролируемого обострения ситуации, прежде всего в Европе. В частности, это (i) роль реконвалесцентов в дальнейшем распространении АЧС, (ii) вирулентность вируса и выяснение возможности создания живых вакцин, (iii) биобезопасность в широком значении контроля факторов риска распространения инфекции, (iv) межсекторальные коммуникации с целью максимальной согласованности действий всех заинтересованных организаций и лиц, информация, обучение, (v) чувствительность диагностических тестов, неинвазивные методы для кабанов, (vi) дезинфекция различных объектов, утилизация трупов кабанов, (vii) участие государственных органов в международной кооперации и финансировании, (viii) значение импорта, миграции, путей, объектов в заносе в благополучные страны, (ix) пассивная форма надзора в природе, пограничный контроль, зонирование в торговле, раннее выявление инфекции, (x) экология, эпизоотология, контроль популяций диких ка-

банов. Результаты GAP-анализа обобщены графически в форме диаграммы-«паука» (рис. 2).

Выводы и рекомендации, вытекающие из такого расклада, сводятся к тому, что актуальность наиболее популярных в современном научном обиходе тривиальных и привычных направлений в исследованиях по АЧС, таких как диагностика (при наличии безукоризненной полимеразной цепной реакции), дезинфекция (все уже давно сделано), не является острой, а главным пробелом в вопросе вирулентности вируса (бесконечное генотипирование) является непригодность, согласно общепринятым представлениям по иммунологии и протективности, предлагаемых вариантов аттенуированного вируса в качестве вакцин, судя по многочисленным публикациям (см. рис. 1). Основные проблемные места, требующие приоритетного внимания, выявлены в четырех категориях из десяти.

Критически важными по диким кабанам оказались пробелы как организационного порядка – необходимость согласованной оценки их популяционной плотности и регистрации заболеваемости в дикой природе, определение методов сокращения абсолютной численности, так и научного выяснения механизмов распространения инфекции и потенциала сохранения вируса в дикой природе, возможности и значения передачи инфекции путем прямого контакта среди кабанов с учетом их поведения.

По вопросу *выздоровления от АЧС и трансмиссии* показано, что для управления процессами требуется больше знаний и понимания роли насекомых в биологическом и механическом распространении инфекции, контаминированных абиотических объектов среды и кормов; возможных рисков в производстве, переработке, транспортировке, хранении кормовых материалов; различных подстилок; предметов хозяйственного обихода; персонала; продуктов свиного происхождения.

Относительно *биобезопасности* критические пробелы заключаются в отсутствии эффективных мер по предотвращению заносов АЧС трансграничных, в отдельные регионы и хозяйства разных систем ведения, передачи инфекции между кабанов и домашними свиньями, рисков вовлечения личных подсобных хозяйств. Серьезным недостатком является низкая общественная осведомленность по проблеме АЧС, недостаточный учет социально-хозяйственного порядка, общественного уклада сельского населения, традиций ведения сельского хозяйства.

Для *надзора* в целях снижения рисков заноса АЧС в благополучные страны/регионы первостепенное значение имеют необходимость усиления трансграничного контроля за перемещением людей, транспорта, товаров, пассивного наблюдения и раннего обнаружения павших животных (прежде всего кабанов), методы индикации возбудителя (корма, объекты после деконтаминации), чувствительные и быстрые диагностические тесты на месте, применимые в полевых условиях, неинвазивные тесты для дикого кабана [6].

Общим недостатком этого GAP-анализа, безусловно, является отсутствие в наборе вопросов по иммунологии АЧС с общеизвестными многочисленными проблемами, а все усилия сосредоточены на поиске генов вирулентности для их удаления и аттенуации вируса. Как сообщается в одной из последних публикаций с участием J. M. Sánchez-Vizcaíno [8], на фоне широкого ин-

формационного потока знания об иммунных механизмах защиты чрезвычайно скудны. Такая тематическая сегрегация может быть отнесена за счет своеобразие локальных интересов западноевропейского сообщества в текущей ситуации.

В то же время в другом основательном GAP-анализе со сходным набором вопросов, выполненном по инициативе GARA (США) [2], проблемы иммунитета также отражены не в достаточной степени. Остаются за рамками рутинных научно-исследовательских работ очевидно хронические пробелы в отношении таких важных моментов, как взаимодействие вируса с макрофагами и вообще функциональная роль этих уникальных клеток в патогенезе и иммунитете, вирусиндуцированные внутриклеточные процессы и репродукция вируса, гемадсорбция как антигенная модуляция клетки-хозяина и гемадсорбирующий антиген, серотиповая реакция задержки гемадсорбции, другие фенотипические, близкие к реалиям признаки *in vitro*, коррелирующие с вирулентностью и иммунитетом, в частности, внутрипопуляционная гетерогенность вируса, отсутствие протективных эффектов гуморального звена иммунной системы (тривиальной вируснейтрализации), культуральных моделей для прямого тестирования экспрессии протективного антигена и феноменологии протективных реакций клеточного и межклеточного уровня *in vitro* (взаимодействий антител с вирусными частицами, CD8⁺ Т-лимфоцитов-киллеров и других цитотоксических эффекторов с инфицированными клетками-мишенями, морфологии иммунного цитолиза), эффекторные возможности Т-клеточного иммунитета.

Без решения этих вопросов, особенно определения и всесторонней характеристики эффекторного звена иммунного ответа с применением современных методов исследования, ориентируясь только на приобретенную устойчивость к контрольному заражению (т. е. на уровне животных), вряд ли возможно рассчитывать на получение вакцин против АЧС и особенно их профилактическую и противозoonотическую эффективность в общепринятом понимании. Вместе с этим ответы на многое из перечисленного были получены ранее в исследованиях лабораторий биохимии и иммунологии ВНИИВВиМ (г. Покров) и широко освещены в отечественной научной печати [9, 10].

Примечательно, что в американском GAP-анализе, вероятно, впервые применительно к контролю панзоотии АЧС, ставится вопрос о целесообразности тотального уничтожения восприимчивого поголовья, подозреваемого в заражении, путем депопуляции с вынужденным убоем десятков тысяч свиней, что приводит к значительным финансовым убыткам, провоцирует всяческие формы противодействия владельцев и сомнительно с этической точки зрения. В связи с этим возникает необходимость изыскания альтернативных решений данной проблемы экономического и социального порядка, удовлетворяющих общественные

требования без ущерба для противозoonотической эффективности [2].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. S2A3: Biographical Database of Southern African Science. Режим доступа: https://www.s2a3.org.za/bio/Biograph_final.php?serial=1949.
2. Global African Swine Fever Research Alliance (GARA). Gap Analysis Report. November 2018. Режим доступа: <https://www.star-idaz.net/app/uploads/2018/11/GARA-Gap-Analysis-Report-2018.pdf>.
3. Montgomery R. Eu. On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony). *J. Comp. Pathol. Ther.* 1921; 34: 159–191. DOI: 10.1016/S0368-1742(21)80031-4.
4. Penrith M. L., Kivaria F. M., Masembe C. One hundred years of African swine fever: A tribute to R. Eustace Montgomery. *Transbound. Emerg. Dis.* 2021; 68 (5): 2640–2642. DOI: 10.1111/tbed.14183.
5. PubMed. African swine fever. Режим доступа: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=african%20swine%20fever&filter=simsearch3.fff&time-line=expanded>.
6. European Food Safety Authority (EFSA), Álvarez J., Bicot D., Boklund A., Bötner A., Depner K., et al. Research gap analysis on African swine fever. *EFSA J.* 2019; 17 (8):e05811. DOI: 10.2903/j.efsa.2019.5811.
7. The Complete Guide to Gap Analysis. Режим доступа: <https://www.smartsheet.com/gap-analysis-method-examples>.
8. Muñoz-Pérez C., Jurado C., Sánchez-Vizcaíno J. M. African swine fever vaccine: Turning a dream into reality. *Transbound. Emerg. Dis.* 2021; 68 (5): 2657–2668. DOI: 10.1111/tbed.14191.
9. Макаров В. В. Африканская чума свиней. М.: Российский университет дружбы народов. 2011. 268 с. Режим доступа: https://giv.ryazangov.ru/upload/iblock/dbc/asf_makarov.pdf.
10. Макаров В. В. Иммунологическая концепция африканской чумы свиней. *Ветеринарная практика.* 2013; 3 (62): 7–22. Режим доступа: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/makarov/asf_imuno.pdf.

REFERENCES

1. S2A3: Biographical Database of Southern African Science. Available at: https://www.s2a3.org.za/bio/Biograph_final.php?serial=1949.
2. Global African Swine Fever Research Alliance (GARA). Gap Analysis Report. November 2018. Available at: <https://www.star-idaz.net/app/uploads/2018/11/GARA-Gap-Analysis-Report-2018.pdf>.
3. Montgomery R. Eu. On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony). *J. Comp. Pathol. Ther.* 1921; 34: 159–191. DOI: 10.1016/S0368-1742(21)80031-4.
4. Penrith M. L., Kivaria F. M., Masembe C. One hundred years of African swine fever: A tribute to R. Eustace Montgomery. *Transbound. Emerg. Dis.* 2021; 68 (5): 2640–2642. DOI: 10.1111/tbed.14183.
5. PubMed. African swine fever. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=african%20swine%20fever&filter=simsearch3.fff&time-line=expanded>.
6. European Food Safety Authority (EFSA), Álvarez J., Bicot D., Boklund A., Bötner A., Depner K., et al. Research gap analysis on African swine fever. *EFSA J.* 2019; 17 (8):e05811. DOI: 10.2903/j.efsa.2019.5811.
7. The Complete Guide to Gap Analysis. Available at: <https://www.smartsheet.com/gap-analysis-method-examples>.
8. Muñoz-Pérez C., Jurado C., Sánchez-Vizcaíno J. M. African swine fever vaccine: Turning a dream into reality. *Transbound. Emerg. Dis.* 2021; 68 (5): 2657–2668. DOI: 10.1111/tbed.14191.
9. Makarov V. V. African swine fever. Moscow: Russian People's Friendship University. 2011. 268 p. Available at: https://giv.ryazangov.ru/upload/iblock/dbc/asf_makarov.pdf. (in Russ.)
10. Makarov V. V. Immunological conception for African swine fever. *Veterinarnaya praktika.* 2013; 3 (62): 7–22. Available at: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/makarov/asf_imuno.pdf. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 23.11.2021

Поступила после рецензирования / Revised 15.12.2021

Принята к публикации / Accepted 11.01.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

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

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



Плотность популяции дикого кабана и распространение африканской чумы свиней в Российской Федерации

О. И. Захарова¹, А. А. Блохин², Н. Н. Торопова³, О. А. Бурова⁴, И. В. Яшин⁵, Ф. И. Коренной⁶

¹⁻⁵ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ); Нижегородский научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ), г. Нижний Новгород, Россия

⁶ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-1408-2989>, e-mail: ozakharaova@fivim.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-5161-1184>, e-mail: and.bloxin2010@yandex.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-4786-6886>, e-mail: toropova.nadya2014@yandex.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5396-0334>, e-mail: burovaolga@list.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-7359-2041>, e-mail: ivanyashin@yandex.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-7378-3531>, e-mail: korennoy@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Такое вирусное трансграничное заболевание всех представителей семейства свиньи (*Suidae*), как африканская чума свиней, наносит колоссальный ущерб не только мировой свиноводческой отрасли, но и экологии кабана (*Sus scrofa*) – животного, являющегося природным резервуаром вируса и участником эпизоотического процесса. Одной из мер по предотвращению распространения африканской чумы свиней на территории Российской Федерации является депопуляция дикого кабана. Рекомендуемое «Планом действий по предотвращению заноса на территорию Российской Федерации африканской чумы свиней и ее распространения» значение плотности популяции кабана в 0,25 особи/1000 га (0,025 особи/км²) для многих субъектов страны было достигнуто к 2020 г., но, как показывает анализ эпизоотической ситуации по африканской чуме свиней, данная мера не привела к полному искоренению инфекции в Российской Федерации. Регрессионный анализ показал, что в ряде модельных субъектов (N = 6) прослеживается статистически значимая положительная взаимосвязь между наличием повторяющихся вспышек африканской чумы свиней в популяции дикого кабана и ее плотности. В то же время в других модельных субъектах (N = 3) такая зависимость отсутствует, а вспышки африканской чумы свиней регистрировались среди диких кабанов при плотности, существенно меньшей рекомендуемого значения. Обзор зарубежной и отечественной научной литературы показал, что применение методов контроля численности кабанов, таких как депопуляция, является лишь частью комплекса мер по искоренению африканской чумы свиней в дикой природе и эффективно лишь при изъятии 70–80% особей в короткие сроки, что практически нереализуемо в силу высоких экономических затрат и нюансов применения методов контроля и сокращения популяции. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что снижение численности дикого кабана не является гарантией прекращения дальнейшего распространения инфекции на территории Российской Федерации и должно рассматриваться в составе комплекса мер, направленных на ликвидацию и предупреждение заноса африканской чумы свиней, наряду с другими противоэпизоотическими мероприятиями.

Ключевые слова: африканская чума свиней, плотность популяции дикого кабана, депопуляция, логистическая регрессия, стратегия ликвидации

Благодарность: Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии».

Для цитирования: Захарова О. И., Блохин А. А., Торопова Н. Н., Бурова О. А., Яшин И. В., Коренной Ф. И. Плотность популяции дикого кабана и распространение африканской чумы свиней в Российской Федерации. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 104–113. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-104-113.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Захарова Ольга Игоревна, научный сотрудник отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, 3, e-mail: ozakharaova@fivim.ru.

Density of wild boar population and spread of African swine fever in the Russian Federation

O. I. Zakharova¹, A. A. Blokhin², N. N. Toropova³, O. A. Burova⁴, I. V. Yashin⁵, F. I. Korennoy⁶

¹⁻⁵ Federal Research Center for Virology and Microbiology (FRCVM); Nizhny Novgorod Research Veterinary Institute – Branch of Federal Research Center for Virology and Microbiology (NNRVI – Branch of the FRCVM), Nizhny Novgorod, Russia

⁶ FGBI “Federal Centre for Animal Health” (FGBI “ARRIAH”), Vladimir, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-1408-2989>, e-mail: ozakharaova@fivim.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-5161-1184>, e-mail: and.bloxin2010@yandex.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-4786-6886>, e-mail: toropova.nadya2014@yandex.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5396-0334>, e-mail: burovaolga@list.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-7359-2041>, e-mail: ivanyashin@yandex.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-7378-3531>, e-mail: korennoy@arriah.ru

SUMMARY

African swine fever (ASF) is a transboundary viral disease affecting all species of the *Suidae* family. It greatly undermines global pig industry and causes a significant damage to the ecology of the wild boar (*Sus scrofa*) which is a natural reservoir of the virus and is an intermediate link in the epizootic process. Depopulation of wild boars is one of the measures taken to prevent spread of African swine fever in the Russian Federation. A threshold density of the wild boar population of 0.25 boars/1000 ha (0.025 boars/km²), according to the National Plan on the ASF Eradication in the Russian Federation, was achieved by 2020 in many RF Subjects. However, further analysis of the ASF epizootic situation shows that the measure has failed to eradicate the infection completely. A regression analysis showed statistically significant positive relationship between recurrent ASF outbreaks in the wild boar population and its density in a number of model subjects (N = 6). At the same time, there is no such dependence in other model subjects (N = 3), and ASF outbreaks were recorded in wild boars at a density significantly lower than the recommended value. A review of foreign and national scientific publications has shown that such control methods as depopulation is just one part of the whole set of measures taken to eradicate African swine fever in the wild. The measure is effective only when 70–80% of animals are culled in a short time, which is practically impossible due to the high costs and some peculiarities of the population control and depopulation process. Based on the results obtained, it can be concluded that a decrease in the number of wild boars does not guarantee to stop further spread of infection in the Russian Federation and it should be considered as just one part of the whole set of measures taken together with other anti-epizootic measures to eliminate and prevent ASF.

Keywords: African swine fever, density of wild boar population, depopulation, logistic regression, elimination strategy

Acknowledgement: The study was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation in the framework of the State Assignment of the Federal Research Center for Virology and Microbiology.

For citations: Zakharova O. I., Blokhin A. A., Toropova N. N., Burova O. A., Yashin I. V., Korennoy F. I. Density of wild boar population and spread of African swine fever in the Russian Federation. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 104–113. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-104-113.

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

For correspondence: Olga I. Zakharova, Researcher, Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, 603950, Russia, Nizhny Novgorod, ul. Veterinarnaya, 3, e-mail: ozakharova@frcvim.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) – вирусное трансграничное заболевание всех представителей семейства свиньи (*Suidae*), приносящее колоссальный ущерб не только свиноводческой отрасли страны, но и экологии кабана как вида. Источником возбудителя являются больные, а также переболевшие, находящиеся в инкубационном периоде, не имеющие клинических признаков и выделяющие возбудитель во внешнюю среду свиньи и дикие кабаны. Многочисленные исследования по изучению роли дикого кабана в распространении АЧС показали, что данное животное является важным, но не основным фактором в распространении вируса АЧС на территории Российской Федерации [1–3]. Как известно, дикий кабан участвует в поддержании энзоотичности территорий [4–6]. Возникновение вспышек АЧС в дикой природе, регистрируемых в РФ на протяжении всего периода неблагополучия, до сих пор имеет в основном спорадический характер. Экологические факторы риска способствуют сохранению и поддержанию вирулентности вируса АЧС во внешней среде и тем самым затрудняют ликвидацию болезни [7]. Источники инфекции в большинстве случаев остаются неизвестными, причиной чего служат особенности ведения как охотничьих хозяйств, так и свиноводства в личных

подсобных хозяйствах (ЛПХ), характеризующиеся бесконтрольным перемещением животных, миграциями диких кабанов, перевозкой продукции свиноводства и охотничьих трофеев [4, 7, 8]. В то время как недостаточная биобезопасность на свинофермах считается основным фактором распространения болезни [9–13], присутствие дикого кабана в экосистеме играет важную роль в передаче вируса АЧС в популяцию домашних свиней, что признано многими странами [9, 14, 15]. Для Российской Федерации и ее отдельных субъектов характерна циркуляция вируса АЧС в популяции кабана [16]. В последнее время такой механизм эпизоотии АЧС четко прослеживается на Дальнем Востоке [17–19].

В настоящее время ведутся дискуссии по вопросу зависимости скорости распространения вируса АЧС от плотности популяции дикого кабана. Исходя из опыта стран Европы, передача вируса, зависящая от плотности популяции кабана, преобладает, но наблюдается не всегда [20]. Из-за особенностей эпизоотического процесса при АЧС такая тенденция в основном зависит от:

– структуры и социальных взаимоотношений как внутри самой восприимчивой популяции кабана, так и между половозрастными группами;

– неясности механизмов передачи вируса от животного к животному и сохранения вируса АЧС в трупах кабанов в зависимости от условий окружающей среды (например, температуры воздуха).

В результате исследований, проведенных в Польше, Германии и Италии, T. Podgórski et al. [21] установили, что частота контактов внутри социальных групп была в 17 раз выше, чем между животными из разных групп. Эти взаимоотношения указывают на сложившуюся метапопуляцию, в которой внутригрупповая передача происходит быстрее, а распространение инфекции между группами ограничено и растянуто во времени. Авторы также выявили, что молодые кабаны наиболее часто взаимодействуют между собой в популяции и могут способствовать более быстрой передаче инфекции. Стратегия управления численностью дикого кабана, влияющая на социальную и пространственную структуру популяции, такая как дополнительная подкормка, может сократить временной интервал передачи вируса, поскольку возможная вероятность контактов между различными группами вида возрастает.

Так, в Польше начиная с 2014 и до середины 2016 г. предполагалось, что функционирование очагов АЧС могло быть следствием более высокой плотности диких кабанов (1–4 особи/км²) на востоке и низкой плотности в западных регионах (< 0,4 особи/км²). Z. Rejsak et al. [22] предположили, что для обеспечения устойчивой циркуляции вируса среди диких кабанов в Польше необходима плотность более двух животных на квадратный километр.

Теория пороговых значений плотности не дает однозначных ответов о закономерностях распространения вируса АЧС, поддержания вспышек в популяции диких кабанов и передачи возбудителя болезни в другие восприимчивые популяции, в т. ч. домашних свиней. Модельные подходы основаны на таких ключевых условиях, как однородное и случайное взаимодействие больных и здоровых особей, что вряд ли воспроизводимо в дикой природе. Помимо плотности популяции кабана на динамику передачи вируса внутри популяции могут влиять такие факторы, как сохранность вируса АЧС в трупах кабанов, социальная структура популяции, механические переносчики и другие. Следовательно, пороговые значения плотности популяции кабана не обязательно будут отражать возможности передачи инфекции в конкретной области. Кроме того, в соответствии со своей социальной природой животные могут группироваться, это происходит даже в тех областях и на территориях, где в целом наблюдается очень низкая плотность популяции, в результате этого формируются зоны с более высокой численностью диких кабанов, создавая предпосылки к возникновению очагов АЧС.

Исследования в области изучения экологии популяции дикого кабана, проводимые в рамках проекта ENETWILD [13, 23] и EFSA [24], показали, что полевые наблюдения – это единственный доступный альтернативный подход для изучения пороговых значений плотности популяции в контексте предупреждения и контроля распространения АЧС.

Одной из мер, являющейся стратегически важной для контроля болезни, является депопуляция дикого кабана, т. е. сокращение его численности до определенного порога значений, при котором внутрипопуляционная передача вируса прекратится или значи-

тельно замедлится из-за уменьшения коэффициента репродукции [25–27].

Анализируя эпизоотическую ситуацию по АЧС в Российской Федерации в настоящее время, можно сказать, что болезнь как в популяции дикого кабана, так и в популяции свиней распространилась почти по всей территории, включая даже те регионы, где, как утверждается, плотность популяции кабана очень низкая. Поэтому целью настоящего исследования явилось определение зависимости возникновения вспышек АЧС в популяции дикого кабана от его плотности на территории Российской Федерации.

В соответствии с целью работы были поставлены следующие задачи:

1) провести ретроспективный анализ эпизоотической ситуации по АЧС в популяции диких кабанов в субъектах Российской Федерации и определить модельные, энзоотичные по АЧС субъекты Российской Федерации, в которых на протяжении нескольких лет сохраняется стойкое неблагополучие в популяции диких кабанов;

2) собрать данные и проанализировать динамику плотности популяций диких кабанов в модельных субъектах Российской Федерации в динамике повторяющихся вспышек;

3) определить, существует ли статистически значимая зависимость возникающих вспышек АЧС от изменений плотности популяции дикого кабана, наблюдающихся в результате охотничьей деятельности, и важной меры по ликвидации эпизоотии АЧС – депопуляции;

4) провести обзор научной литературы по экологии дикого кабана в условиях АЧС с целью систематизации применяемых практик по уменьшению циркуляции вируса АЧС в данной популяции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Используя методологию для систематических обзоров и метаанализов [28] PRISMA (<http://www.prisma-statement.org/PRISMAStatement/PRISMAStatement.aspx>), был проведен поиск литературы в базах данных Web of Science, PubMed, Scopus и Google Scholar, чтобы найти соответствующую информацию по определению возможных применяемых методик и практик для обеспечения благополучия в популяции дикого кабана при АЧС. Поисковый запрос включал следующие ключевые слова: африканская чума свиней, плотность популяции дикого кабана, депопуляция, логистическая регрессия, стратегия ликвидации, при этом никаких ограничений по дате публикации не применяли. Также осуществляли поиск литературы в библиографической базе данных РИНЦ (Российский индекс научного цитирования) с использованием SciencelIndex. Для этого провели первый просмотр заголовков и аннотаций, затем проанализировали полные тексты статей, которые были определены как релевантные.

Модельные регионы. На основании ретроспективного анализа эпизоотической ситуации по АЧС в качестве модельных регионов были выбраны субъекты РФ, в которых очаги АЧС среди кабанов повторялись с 2013 по 2021 г., а также для которых были доступны данные о многолетнем изменении численности и плотности популяции в период эпизоотии на уровне муниципальных районов: Владимирской, Ярославской, Рязанской, Нижегородской, Самарской, Саратовской и Амурской областей, а также Хабаровского и Приморского краев.

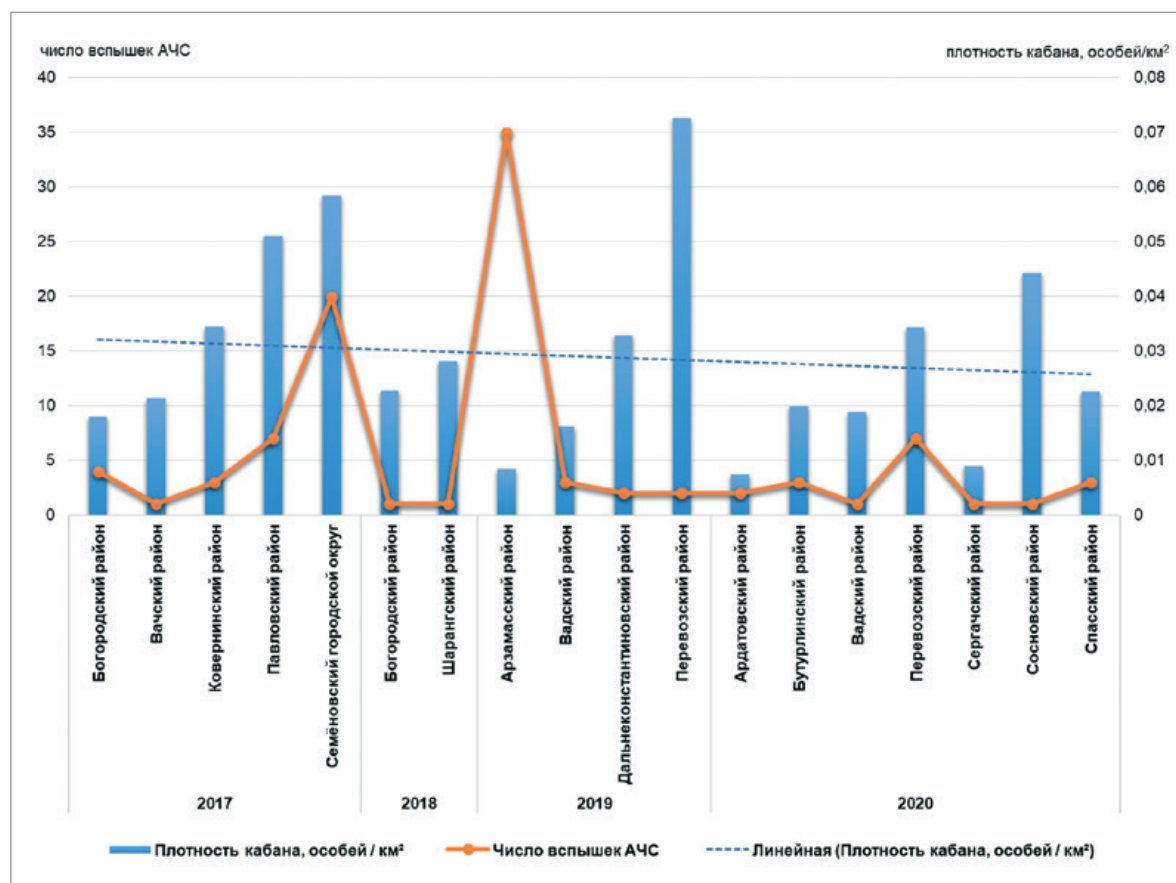


Рис. 1. Периодичность вспышек АЧС в популяции диких кабанов Нижегородской области (2017–2020 гг.)

Fig. 1. Frequency of ASF outbreaks in the wild boar population of the Nizhny Novgorod Oblast (2017–2020)

В рамках данной работы под вспышкой (очагом) понималось возникновение одного или нескольких случаев АЧС в эпизоотологической единице (муниципальном районе РФ). При этом случай определялся как отдельное животное, инфицированное патогенным агентом с клиническими признаками или без них¹.

Данные о регистрации АЧС в популяции дикого кабана взяты из официальной отчетности ФГБУ «Центр ветеринарии» (г. Москва)².

Данные о численности и плотности популяции дикого кабана на уровне муниципальных районов представлены с региональных сайтов Минприроды и комитетов охотничьих хозяйств³.

Эпизоотическая информация по вспышкам АЧС и данные о численности и плотности популяции кабана охватывали период с 2013 по 2021 г.

Моделирование взаимосвязи регистрации вспышек АЧС в популяции дикого кабана с динамикой плотности его популяции осуществлялось методом обобщенной линейной логистической регрессии (GLLR), с помощью которой исследуется зависимость между дихотомической переменной («да/нет») и одним или несколькими объясняющими факторами [29–31]. В нашем

случае объясняемой переменной явилось наличие/отсутствие зарегистрированных вспышек АЧС в популяции дикого кабана в данном муниципальном районе, а объясняющим фактором – плотность популяции кабана в муниципальном районе за соответствующий год. Значимость объясняющей переменной оценивалась с помощью t -критерия Стьюдента (статистический критерий $p_i < 0,05$ указывает на значимость переменной в качестве объясняющего фактора). Общая статистическая значимость моделей оценивалась с помощью теста согласия Хосмера – Лемешоу, определяющего соотношение между спрогнозированными и наблюдаемыми частотами возникновения события по подгруппам модели популяции. Уровень статистической достоверности данного теста при $p_{hs} > 0,05$ свидетельствует о достаточной прогностической способности модели.

Кроме значимости и достоверности моделей также были оценены отношения шансов (Odds ratio – OR) получения положительного исхода для каждого субъекта и проведена сравнительная характеристика этого коэффициента по степени вклада объясняющей переменной (плотности популяции кабана).

Моделирование зависимости вспышек АЧС от плотности популяции кабанов на уровне муниципальных районов проводили, используя уравнение логистической регрессии с помощью статистически ориентированного языка программирования R⁴.

¹ OIE. Terrestrial Animal Health Code. Режим доступа: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/?id=169&L=1&htmlfile=sommaire.htm>.

² Эпизоотическая обстановка. Случаи регистрации особо опасных и социально значимых болезней животных. Режим доступа: <https://центр-ветеринарии.рф/informatsiya/epizooticheskaya-obstanovka>.

³ Минприроды России. Режим доступа: <https://www.mnr.gov.ru>.

⁴ R-4.1.1 for Windows. Режим доступа: <https://cran.r-project.org/bin/windows/base>.

Картографирование данных по вспышкам АЧС и плотности популяции кабанов в модельных регионах выполнялось с помощью геоинформационной системы ArcGIS for Desktop 10.8.1 (ESRI, Redlands, California, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ретроспективный эпизоотологический анализ.

В результате изучения научной литературы по определению методик обеспечения благополучия по АЧС в популяции диких кабанов было отобрано 45 обзоров из международных баз научного цитирования и 40 научных статей из базы РИНЦ, соответствующих критериям отбора поиска. Обобщив результаты, изложенные в этих исследованиях, описали разносторонние мнения по значимости плотности популяции кабана в распространении и поддержании неблагополучия по АЧС в разделе «Обсуждение».

Ретроспективный эпизоотологический анализ показал, что, по данным ФГБУ «Центр ветеринарии», с 2013 по 2021 г. в модельных регионах произошло всего 2036 вспышек АЧС, из них 1181 – в популяции домашних свиней и 855 – в популяции кабана.

Наибольшее суммарное количество вспышек АЧС в популяции дикого кабана было отмечено в Саратовской (128), Самарской (95), Волгоградской (84) областях, Приморском крае (80), Амурской (69), Воронежской (52), Московской (52) областях и Хабаровском крае (47).

Эпизоотологический анализ ситуации по АЧС в модельных регионах показал стационарность вспышек заболевания в популяции кабанов, характерную в основном для природно-очаговых болезней, при которых сохраняется способность возбудителя инфекции длительно существовать на определенных территориях среди постоянно живущих на ней диких животных.

Таблица

Результаты моделирования зависимости вспышек АЧС от плотности популяции кабана в Российской Федерации (2013–2021 гг.)

Table

Modeling dependence of ASF outbreaks on the density of wild boar population in the Russian Federation (2013–2021)

Субъект РФ	Годы регистрации вспышек АЧС	Количество очагов / количество случаев АЧС в популяции кабанов	Odds ratio (OR)	p-value GLLR-модели
Владимирская область	2013	2/13	$6,58 \times 10^6$	0,002**
	2015	1/12		
	2016	17/38		
	2017	8/41		
	2018	1/1		
Ярославская область	2013	22/52	47,94	0,442
	2015	2/61		
	2019	1/4		
	2021	4/4		
Рязанская область	2015	22/52	12 456,52	0,018*
	2016	44/341		
Нижегородская область	2016	1/5	2,61	0,326
	2017	20/35		
	2018	2/2		
	2019	5/42		
	2020	9/18		
Самарская область	2020	60/163	7,92	0,116
	2021	2/9		
Саратовская область	2015	4/10	121,75	0,009**
	2016	8/26		
	2017	5/10		
	2021	1/7		
Амурская область	2019	1/18	113,07	0,05*
	2020	8/32		
	2021	1/1		
Приморский край	2019	20/41	81,31	0,005**
	2020	42/128		
	2021	10/20		
Хабаровский край	2019	6/7	824,68	0,004**
	2020	18/29		
	2021	3/3		
Модельные субъекты	2013–2021	351/916	1,15	0,420

GLLR – обобщенная линейная логистическая регрессионная модель (GLLR is a generalized linear logistic regression model);

Odds ratio (OR) – отношение шансов (1/0) при значении $p_t < 0,05 - n^*$, $p_t < 0,001 - n^{**}$

(OR – odds ratio (1/0), with a value of $p_t < 0,05 - n^*$, $p_t < 0,001 - n^{**}$).

Вспышки болезни могут повторяться через различные промежутки времени из-за сохранения условия для их возникновения. Периодичность вспышек АЧС в популяции диких кабанов в одних и тех же районах модельных регионов дает возможность определять их как стационарные, например в Нижегородской области (рис. 1).

Моделирование взаимосвязи вспышек АЧС с плотностью дикого кабана. Моделирование взаимосвязи между наличием вспышек АЧС и плотностью популяции кабанов проводилось на уровне муниципальных районов:

- 1) в целом для всех выбранных модельных субъектов;
- 2) для каждого субъекта индивидуально.

Моделирование по всем модельным субъектам в целом показало как статистическую незначимость плотности популяции кабанов в качестве объясняющего фактора ($p_t = 0,42$), так и неудовлетворительный результат теста Хосмера – Лемешоу ($p_{hs} < 0,01$), свидетельствующий о плохой объясняющей способности модели. Это позволяет сделать вывод о невозможности установления однозначного соответствия между плотностью популяций кабанов и наличием повторяющихся вспышек АЧС в масштабе модельного региона в целом (табл.).

В то же время моделирование для отдельных субъектов Российской Федерации показало, что в большинстве субъектов (70%), в 6 из 9: Хабаровский край, Приморский край, Амурская область, Владимирская область, Рязанская область, Саратовская область – наблюдается наличие статистически значимой ($p_t < 0,05$) положительной зависимости возникновения вспышек АЧС от плотности популяции кабанов (рис. 2).

Полученные результаты по отношению шансов (Odds ratio) указывают на то, что зависимость вспышек АЧС от плотности популяции кабана с большей вероятностью наблюдается во Владимирской, Рязанской и Саратовской областях, а также в Хабаровском и Приморском краях. При этом наибольшая статистическая достоверность зависимости явления от объясняющего фактора – плотности популяции – была получена для Владимирской области, Приморского и Хабаровского краев. То есть можно сказать, что при $OR > 1$, и чем выше значение показателя отношения шансов, тем выше шансы обозначить фактор риска и зависимость регистрируемых вспышек АЧС от плотности популяции дикого кабана.

Однако в трех из девяти модельных субъектов (Нижегородская, Самарская и Ярославская области) такая зависимость не выявлена. В данных модельных субъектах вспышки АЧС отмечались даже в районах, где плотность популяции кабана существенно ниже рекомендуемого значения в 0,25 особи/1000 га (0,025 особи/км²), утвержденного распоряжением Правительства РФ от 30.09.2016 № 2048-р (ред. от 04.02.2021) «Плана действий по предотвращению заноса на территорию Российской Федерации африканской чумы свиней и ее распространения»⁵.

На рисунке 3 в качестве примера показана зависимость вспышек АЧС среди кабанов от плотности попу-

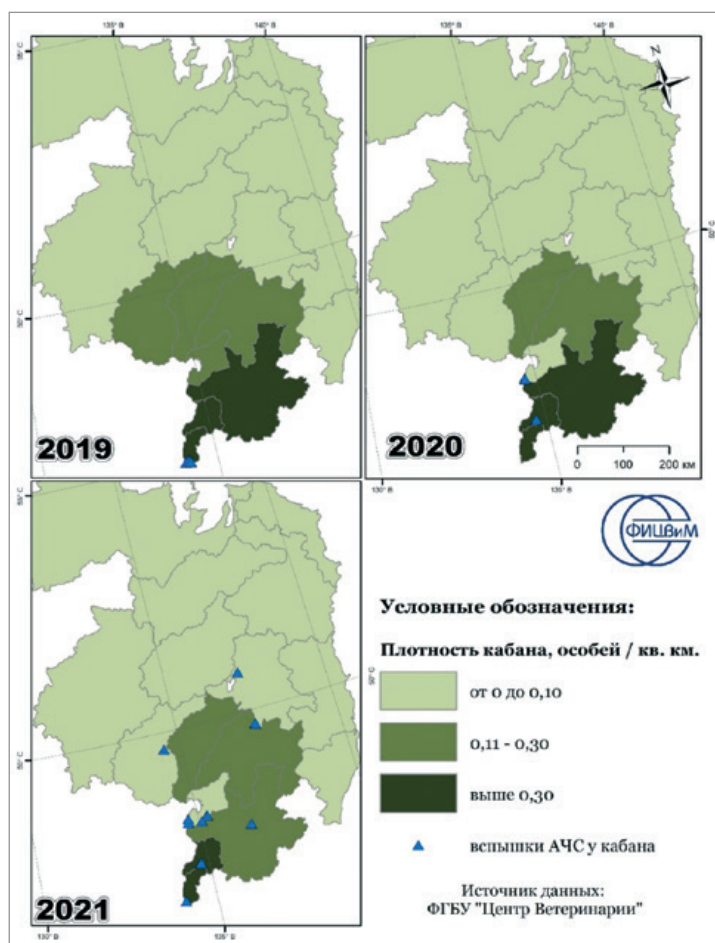


Рис. 2. Развитие эпизоотической ситуации по АЧС в Хабаровском крае на фоне значений плотности популяции дикого кабана (2019–2021 гг.)

Fig. 2. Changes in the ASF epizootic situation in the Khabarovsk Krai related to the density of the wild boar population (2019–2021)

ляции с 2017 по 2020 г. для Нижегородской области. Во всех рассмотренных случаях модели демонстрировали удовлетворительный результат теста Хосмера – Лемешоу ($p_{hs} > 0,05$), свидетельствующий о достаточной предсказательной способности моделей.

ОБСУЖДЕНИЕ

Эпизоотическая ситуация по АЧС в субъектах Российской Федерации в настоящее время остается напряженной из-за вспышек как в популяции домашних свиней, так и среди диких кабанов. Несмотря на принятые меры по предупреждению распространения АЧС в дикой природе, в настоящее время продолжают регистрироваться случаи интродукции вируса АЧС в популяции кабана на ранее свободных от инфекции территориях. Регистрируемые вспышки АЧС и убывающий тренд плотности популяции кабана в исследуемых модельных субъектах косвенно подтверждают предположение, что кабаны играют определенную, но не основную роль в распространении вируса АЧС. Сокращение популяции кабана, целевая охота на самок и удаление туш павших животных, регулярно осуществляемые в качестве мер по борьбе с АЧС на ранее неблагополучных по АЧС территориях, эффективно снижают риск распространения инфекции.

⁵ Распоряжение Правительства РФ от 30.09.2016 № 2048-р (ред. от 04.02.2021) «Об утверждении плана действий по предотвращению заноса на территорию Российской Федерации африканской чумы свиней и ее распространения». КонсультантПлюс. Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_205372.

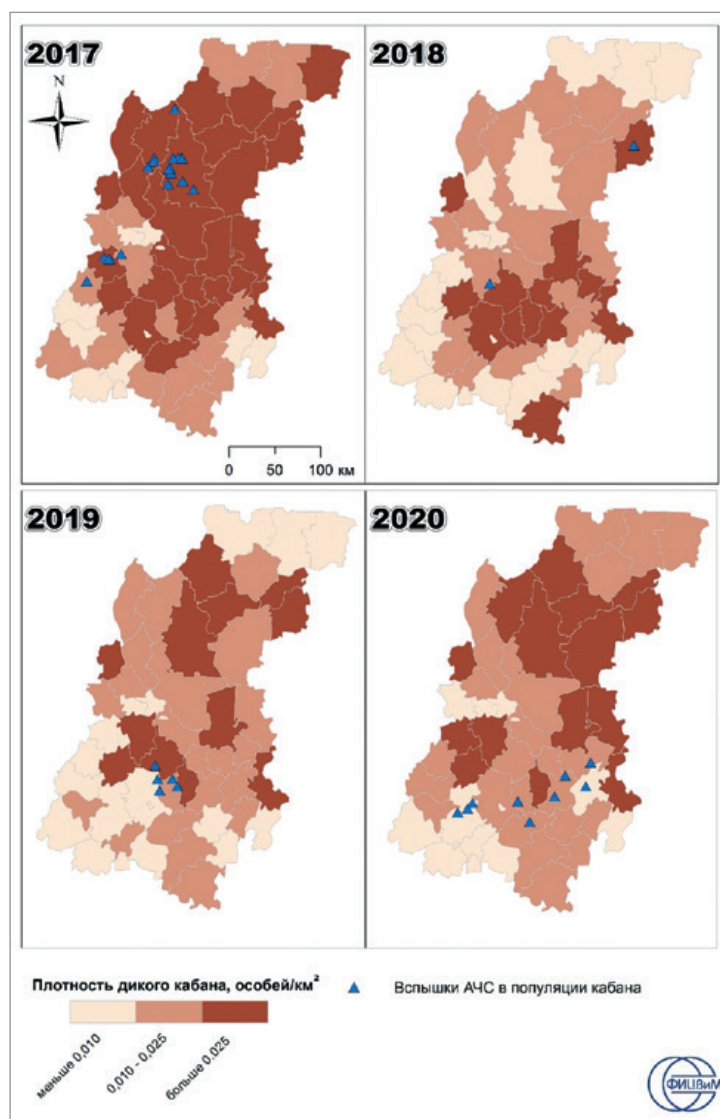


Рис. 3. Развитие эпизоотической ситуации по АЧС в популяции диких кабанов на фоне значений плотности в Нижегородской области (2017–2020 гг.)

Fig. 3. Changes in the ASF epizootic situation in the Nizhny Novgorod Oblast related to the density of the wild boar population (2017–2020)

Некоторые исследователи предполагают, что снижение плотности популяции дикого кабана ниже определенного уровня может остановить распространение АЧС [21, 22, 26, 32], другие авторы считают, что достижение такого уровня не гарантирует прекращения эпизоотической цепи [11, 20, 24, 33]. Действующее в настоящее время национальное законодательство по профилактике и контролю АЧС предполагает снижение плотности популяции животных на пораженных АЧС территориях до рекомендуемого значения 0,25 особи/1000 га, что может быть достигнуто интенсивной депопуляцией дикого кабана в исследуемых регионах.

Рядом исследователей показано, что в настоящее время невозможно установить пороговые значения плотности популяции диких кабанов, которые могут считаться критическими для поддержания и распространения АЧС. На основе анализа отечественной и зарубежной литературы предлагаются различные стратегии управления дикими кабанов на определенных

этапах развития эпизоотии АЧС [34–36]. Профилактические меры по сокращению (депопуляция) и стабилизации плотности популяции диких кабанов до заноса АЧС будут эффективны как для снижения вероятности заражения популяции, так и для уменьшения затрат и усилий, необходимых для потенциальных экстренных действий по искоренению болезни (снижение затрат на поиски трупов кабанов) [37–39]. Пассивный надзор – самый действенный метод для раннего обнаружения АЧС на благополучных территориях (поиск, безопасное удаление и уничтожение трупов кабанов). После очаговой интродукции АЧС популяции кабанов должны оставаться нетронутыми в течение короткого периода (например, запретить охоту на все виды, не убирать урожай, чтобы обеспечить пищу и укрытие на пораженной территории), а резкое сокращение популяции кабанов может быть выполнено только на благополучных от АЧС территориях среди здоровой популяции [26, 40]. После спада эпизоотии, определенного с помощью пассивного эпизоотологического надзора, следует пересмотреть активное управление популяцией. Выявленная положительная тенденция зависимости возникновения вспышек АЧС среди кабанов в ряде модельных субъектах Российской Федерации свидетельствует о локально-пространственном влиянии плотности популяции кабана на распространение АЧС.

В целом, рассматривая зависимость наличия вспышек АЧС от плотности популяции по всем выбранным модельным субъектам, положительной тенденции не наблюдается, хотя в отдельных областях в результате регрессионного анализа нами была установлена положительная связь. Говоря о депопуляции как стратегической мере по сдерживанию распространения АЧС, можно предположить, что ее применение в крупных масштабах может привести к обратному эффекту и возникновению новых очагов в связи с расширением среднего радиуса расселения популяции дикого кабана [41].

Данный факт позволяет утверждать, что депопуляция кабана как стратегическая мера по управлению АЧС и искоренению этого заболевания необходима, но на определенных территориях, свободных от болезни и прилегающих к инфицированным. Эффективная стратегия по ликвидации и предупреждению распространения АЧС в дикой природе, по нашему мнению, должна основываться на следующих принципах:

- регулярном пассивном мониторинге АЧС в дикой природе;
- математико-географическом моделировании с целью установления взаимосвязи между вспышками АЧС и популяционными характеристиками дикого кабана (плотность, структура);
- контроле численности кабана и строгом соблюдении правил биобезопасности при охоте и обнаружении туш павших животных;
- изоляции зараженных территорий (последние исследования подтвердили, что в настоящее время АЧС у кабанов протекает так же, как и у домашних свиней – в острой форме, что снижает их роль в распространении инфекции);
- в случае заноса АЧС в ранее благополучный регион рекомендуется полностью остановить загонную охоту, подкормку кабана и в целом не предпринимать никаких действий по регулированию численности популяции;

– для предотвращения дальнейшего распространения по территории возможно массовое сокращение численности кабана в прилегающих к зараженной местности областях до заноса на них инфекции.

Существенным ограничением для установления определяемой зависимости возникающих вспышек АЧС от плотности популяции диких кабанов при применении данного метода анализа является неполнота данных о плотности на уровне муниципальных районов для всех субъектов РФ. Заполнение пробела в решении вопроса зависимости возникающих вспышек АЧС от плотности популяции дикого кабана будет продолжено по мере поступления необходимых данных и экстраполировано на всю территорию Российской Федерации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Статистический анализ показал отсутствие однозначной зависимости тенденции к возникновению вспышек АЧС от плотности популяции дикого кабана в модельных регионах, хотя для ряда субъектов РФ такая зависимость имеет место. Полученный результат предполагает, что снижение численности дикого кабана до рекомендованных уровней плотности популяции не является гарантией прекращения дальнейшего распространения АЧС и должно рассматриваться как одно из звеньев в комплексе мер наряду с использованием ограждений, прекращением подкормки кабана, запретом загонной охоты. Депопуляция может применяться только на благополучных и прилегающих к неблагополучным субъектам (районам) территориях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Балышев В. М., Куриннов В. В., Цыбанов С. Ж., Калантаенко Ю. Ф., Колбасов Д. В., Пронин В. В., Корнева Г. В. Биологические свойства вируса африканской чумы свиней, выделенного в Российской Федерации. *Ветеринария*. 2010; 7: 25–27. eLIBRARY ID: 15110424.
2. Gabriel C., Blome S., Malogolovkin A., Parilov S., Kolbasov D., Teifke J. P., Beer M. Characterization of African swine fever virus Caucasus isolate in European wild boars. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17 (12): 2342–2345. DOI: 10.3201/eid1712.110430.
3. Jori F., Chenais E., Boinas F., Busauskas P., Dhollander S., Fleischmann L., et al. Application of the World Café method to discuss the efficiency of African swine fever control strategies in European wild boar (*Sus scrofa*) populations. *Prev. Vet. Med.* 2020; 185:105178. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2020.105178.
4. Miller R. S., Farnsworth M. L., Malmberg J. L. Diseases at the live-stock-wildlife interface: status, challenges, and opportunities in the United States. *Prev. Vet. Med.* 2013; 110 (2): 119–132. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2012.11.021.
5. Jori F., Relun A., Trabucco B., Charrier F., Maestrini O., Chavernac D., et al. Questionnaire-based assessment of wild boar/domestic pig interactions and implications for disease risk management in Corsica. *Front. Vet. Sci.* 2017; 4:198. DOI: 10.3389/fvets.2017.00198.
6. Guberti V., Khomenko S., Masiulis M., Kerba S. GF-TADs Handbook on African Swine Fever in wild boar and biosecurity during hunting. 2018. Режим доступа: https://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/ASF/GF-TADs_Handbook_ASF_WILDBOAR_version_2018-12-19.pdf.
7. Макаров В. В., Иголкин А. С., Боев Б. В., Сухарев О. И., Рожков Ю. И., Варнаков А. П., Проняев А. В. О некоторых моментах текущей эпизоотологии африканской чумы свиней. *Вестник охотоведения*. 2015; 12 (1): 61–65. Режим доступа: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/makarov/asf_moment.pdf.
8. Jori F., Bastos A. D. S. Role of wild suids in the epidemiology of African swine fever. *EcoHealth*. 2009; 6: 296–310. DOI: 10.1007/s10393-009-0248-7.
9. Pepin K. M., Golnar A. J., Abdo Z., Podgórski T. Ecological drivers of African swine fever virus persistence in wild boar populations: Insight for control. *Ecol. Evol.* 2020; 10 (6): 2846–2859. DOI: 10.1002/ece3.6100.
10. Halasa T., Boklunda A., Bøtner A., Mortensen S., Kjærab L. J. Simulation of transmission and persistence of African swine fever in wild boar in Denmark. *Prev. Vet. Med.* 2019; 167 (1): 68–79. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2019.03.028.
11. Guberti V., Khomenko S., Masiulis M., Kerba S. African swine fever in wild boar ecology and biosecurity. *FAO Animal Production and Health Manual No. 22*. Rome: FAO, OIE and EC; 2019. DOI: 10.4060/CA5987EN.
12. Taylor R. A., Condoleo R., Simons R. R. L., Gale P., Kelly L. A., Snary E. L. The risk of infection by African swine fever virus in European swine through boar movement and legal trade of pigs and pig meat. *Front. Vet. Sci.* 2020; 6:486. DOI: 10.3389/fvets.2019.00486.
13. ENETWILD Consortium, Keuling O., Sange M. D., Acevedo P., Podgórski T., Smith G. C., et al. Guidance on estimation of wild boar population abundance and density: methods, challenges, possibilities. *EFSA Supporting Publications*. 2018; 15 (7):1449E. DOI: 10.2903/sp.efsa.2018.EN-1449.
14. Бардина Н. С., Петрова О. Н., Саввин А. В. Роль диких кабанов в эпизоотическом процессе АЧС. *Ветеринария сегодня*. 2012; (1): 37–42. eLIBRARY ID: 22296397.
15. Podgórski T., Śmietanka K. Do wild boar movements drive the spread of African swine fever? *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (6): 1588–1596. DOI: 10.1111/tbed.12910.
16. Макаров В. В., Василевич Ф. И., Боев Б. В., Сухарев О. И. Природная очаговость африканской чумы свиней. М.: МГАВМиБ; РУДН; 2014. 66 с. Режим доступа: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/news/asf/asf_makarov/makarov_ochag_asf.pdf.
17. Chenais E., Depner K., Guberti V., Dietze K., Viltrop A., Ståhl K. Epidemiological considerations on African swine fever in Europe 2014–2018. *Porc. Health Manag.* 2019; 5:6. DOI: 10.1186/s40813-018-0109-2.
18. European Food Safety Authority, Depner K., Gortazar C., Guberti V., Masiulis M., More S., et al. Epidemiological analyses of African swine fever in the Baltic States and Poland. *EFSA J.* 2017; 15 (11): e05068. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.5068.
19. Gaudreault N. N., Madden D. W., Wilson W. C., Trujillo J. D., Richt J. A. African swine fever virus: An emerging DNA Arbovirus. *Front. Vet. Sci.* 2020; 7:215. DOI: 10.3389/fvets.2020.00215.
20. Bellini S., Casadei G., De Lorenzi G., Tamba M. A review of risk factors of African swine fever incursion in pig farming within the European Union scenario. *Pathogens*. 2021; 10 (1):84. DOI: 10.3390/pathogens10010084.
21. Podgórski T., Apollonio M., Keuling O. Contact rates in wild boar populations: Implications for disease transmission. *J. Wild. Mgmt.* 2018; 82 (6): 1210–1218. DOI: 10.1002/jwmg.21480.
22. Pejsak Z., Truszczyński M., Niemczuk K., Kozak E., Markowska-Daniel I. Epidemiology of African swine fever in Poland since the detection of the first case. *Pol. J. Vet. Sci.* 2014; 17 (4): 665–672. DOI: 10.2478/pjvs-2014-0097.
23. ENETWILD consortium, Acevedo P., Croft S., Smith G., Blanco-Aguar A., Fernandez-Lopez J., et al. ENETwild modelling of wild boar distribution and abundance: update of occurrence and hunting data-based models. *EFSA Supporting Publications*. 2019; 16 (8):1674E. DOI: 10.2903/sp.efsa.2019.EN-1674.
24. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW), More S., Miranda M. A., Bicot D., Bøtner A., Butterworth A., et al. African swine fever in wild boar. *EFSA J.* 2018; 16 (7):e05344. DOI: 10.2903/j.efsa.2018.5344.
25. Петрова О. Н., Коренной Ф. И., Караулов А. К. Краткий анализ распространения АЧС на территории Российской Федерации за 2007–2018 гг. с учетом ареала обитания диких кабанов. *БИО*. 2018; 8: 26–37. eLIBRARY ID: 37307660.
26. Gervasi V., Marcon A., Bellini S., Guberti V. Evaluation of the efficiency of active and passive surveillance in the detection of African swine fever in wild boar. *Vet. Sci.* 2019; 7 (1):5. DOI: 10.3390/vetsci7010005.
27. Iglesias I., Muñoz M. J., Montes F., Perez A., Gogin A., Kolbasov D., de la Torre A. Reproductive ratio for the local spread of African swine fever in wild boars in the Russian Federation. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (6): e237–e245. DOI: 10.1111/tbed.12337.
28. Page M. J., McKenzie J. E., Bossuyt P. M., Boutron I., Hoffmann T. C., Mulrow C. D., et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ*. 2021; 372:n71. DOI: 10.1136/bmj.n71.
29. Domínguez-Almendros S., Benítez-Parejo N., Gonzalez-Ramirez A. R. Logistic regression models. *Allergol. Immunopathol. (Madr.)*. 2011; 39 (5): 295–305. DOI: 10.1016/j.aller.2011.05.002.
30. Bangdiwala S. I. Regression: binary logistic. *Int. J. Inj. Contr. Saf. Promot.* 2018; 25 (3): 336–338. DOI: 10.1080/17457300.2018.1486503.
31. Zeileis A., Kleiber C., Jackman S. Regression models for count data in R. *Journal of Statistical Software*. 2008; 27 (8): 1–25. DOI: 10.18637/jss.v027.i08.
32. Oļševskis E., Schulz K., Staubach C., Seržants M., Lamberga K., Pūle D., et al. African swine fever in Latvian wild boar – A step closer to elimination. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67 (6): 2615–2629. DOI: 10.1111/tbed.13611.
33. Данилкин А. А. Управление ресурсами кабана и других животных при африканской чуме свиней. М.: Товарищество научных изданий КМК; 2020. 150 с. Режим доступа: <http://www.journalhunt.com/img/file/kabanachskniga.pdf>.

34. European Food Safety Authority (EFSA), Nielsen S. S., Alvarez J., Bicout D. J., Calistri P., Depner K., et al. ASF exit strategy: Providing cumulative evidence of the absence of African swine fever virus circulation in wild boar populations using standard surveillance measures. *EFSA J.* 2021; 19 (3):e06419. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6419.
 35. Lange M., Guberti V., Thulke H.-H. Understanding ASF spread and emergency control concepts in wild boar populations using individual-based modelling and spatio-temporal surveillance data. *EFSA Supporting Publications.* 2018; 15 (11):1521E. DOI: 10.2903/sp.efsa.2018.EN-1521.
 36. Danzetta M. L., Marenzoni M. L., Iannetti S., Tizzani P., Calistri P., Feliziani F. African swine fever: Lessons to learn from past eradication experiences. A systematic review. *Front. Vet. Sci.* 2020; 7:296. DOI: 10.3389/fvets.2020.00296.
 37. Zakharova O. I., Titov I. A., Gogin A. E., Sevskikh T. A., Korennoy F. I., Kolbasov D. V., et al. African swine fever in the Russian Far East (2019–2020): Spatio-temporal analysis and implications for wild ungulates. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8:723081. DOI: 10.3389/fvets.2021.723081.
 38. Schulz K., Staubach C., Blome S., Nurmoja I., Viltrop A., Conraths F. J., et al. How to demonstrate freedom from African swine fever in wild boar-Estonia as an example. *Vaccines (Basel).* 2020; 8 (2):336. DOI: 10.3390/vaccines8020336.
 39. Коренной Ф. И., Гуленкин В. М., Караулов А. К. Африканская чума свиней у диких кабанов на территории Российской Федерации: к вопросу о регулировании численности. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии.* 2016; 1 (29): 29–37. Режим доступа: http://www.invetbio.spb.ru/avvb/AVVB_2016_01.pdf.
 40. Nurmoja I., Schulz K., Staubach C., Sauter-Louis C., Depner K., Conraths F. J., Viltrop A. Development of African swine fever epidemic among wild boar in Estonia – two different areas in the epidemiological focus. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1):12562. DOI: 10.1038/s41598-017-12952-w.
 41. De Freitas Costa E., Schneider S., Carlotto G. B., Cabalheiro T., de Oliveira Júnior M. R. Zero-inflated-censored Weibull and gamma regression models to estimate wild boar population dispersal distance. *Jpn. J. Stat. Data Sci.* 2021; 4: 1133–1155. DOI: 10.1007/s42081-021-00124-0.
- ## REFERENCES
1. Balyshev V. M., Kurinnov V. V., Tsiabanov S. G., Kalantaenko U. F., Kolbasov D. V., Pronin V. V., Korneva G. V. Biological characteristics of the African swine fever virus isolated in the Russian Federation. *Veterinariya.* 2010; 7: 25–27. eLIBRARY ID: 15110424. (in Russ.)
 2. Gabriel C., Blome S., Malogolovkin A., Parilov S., Kolbasov D., Teifke J. P., Beer M. Characterization of African swine fever virus Caucasus isolate in European wild boars. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17 (12): 2342–2345. DOI: 10.3201/eid1712.110430.
 3. Jori F., Chenais E., Boinas F., Busauskas P., Dhollander S., Fleischmann L., et al. Application of the World Café method to discuss the efficiency of African swine fever control strategies in European wild boar (*Sus scrofa*) populations. *Prev. Vet. Med.* 2020; 185:105178. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2020.105178.
 4. Miller R. S., Farnsworth M. L., Malmberg J. L. Diseases at the live-stock-wildlife interface: status, challenges, and opportunities in the United States. *Prev. Vet. Med.* 2013; 110 (2): 119–132. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2012.11.021.
 5. Jori F., Relun A., Trabucco B., Charrier F., Maestrini O., Chavernac D., et al. Questionnaire-based assessment of wild boar/domestic pig interactions and implications for disease risk management in Corsica. *Front. Vet. Sci.* 2017; 4:198. DOI: 10.3389/fvets.2017.00198.
 6. Guberti V., Khomenko S., Masiulis M., Kerba S. GF-TADs Handbook on African Swine Fever in wild boar and biosecurity during hunting. 2018. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/fr/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/ASF/GF-TADs_Handbook_ASF_WILDBOAR_version_2018-12-19.pdf.
 7. Makarov V. V., Igolkin A. S., Boev B. V., Sukharev O. I., Rozhkov Yu. I., Varnakov A. P., Pronyaev A. V. Some elements in the current epidemic of African swine fever. *The Herald of Game Management.* 2015; 12 (1): 61–65. Available at: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/makarov/asf_moment.pdf. (in Russ.)
 8. Jori F., Bastos A. D. S. Role of wild suids in the epidemiology of African swine fever. *EcoHealth.* 2009; 6: 296–310. DOI: 10.1007/s10393-009-0248-7.
 9. Pepin K. M., Golnar A. J., Abdo Z., Podgórski T. Ecological drivers of African swine fever virus persistence in wild boar populations: Insight for control. *Ecol. Evol.* 2020; 10 (6): 2846–2859. DOI: 10.1002/ece3.6100.
 10. Halasa T., Boklund A., Bøtner A., Mortensen S., Kjærab L. J. Simulation of transmission and persistence of African swine fever in wild boar in Denmark. *Prev. Vet. Med.* 2019; 167 (1): 68–79. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2019.03.028.
 11. Guberti V., Khomenko S., Masiulis M., Kerba S. African swine fever in wild boar ecology and biosecurity. *FAO Animal Production and Health Manual No. 22.* Rome: FAO, OIE and EC; 2019. DOI: 10.4060/CA5987EN.
 12. Taylor R. A., Condoleo R., Simons R. R. L., Gale P., Kelly L. A., Snary E. L. The risk of infection by African swine fever virus in European swine through boar movement and legal trade of pigs and pig meat. *Front. Vet. Sci.* 2020; 6:486. DOI: 10.3389/fvets.2019.00486.
 13. ENETWILD consortium, Keuling O., Sange M. D., Acevedo P., Podgórski T., Smith G. C., et al. Guidance on estimation of wild boar population abundance and density: methods, challenges, possibilities. *EFSA Supporting Publications.* 2018; 15 (7):1449E. DOI: 10.2903/sp.efsa.2018.EN-1449.
 14. Bardina N. S., Petrova O. N., Sawin A. V. The role of wild boars in the ASF epidemic process in the Russian Federation. *Veterinary Science Today.* 2012; (1): 37–42. eLIBRARY ID: 22296397.
 15. Podgórski T., Śmietanka K. Do wild boar movements drive the spread of African swine fever? *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (6): 1588–1596. DOI: 10.1111/tbed.12910.
 16. Makarov V. V., Vasilevich F. I., Boev B. V., Sukharev O. I. Natural focus of African swine fever. Moscow: Moscow SAVMB; RUDN; 2014. 66 p. Available at: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/news/asf/asf_makarov/makarov_ochag_asf.pdf. (in Russ.)
 17. Chenais E., Depner K., Guberti V., Dietze K., Viltrop A., Ståhl K. Epidemiological considerations on African swine fever in Europe 2014–2018. *Porc. Health Manag.* 2019; 5:6. DOI: 10.1186/s40813-018-0109-2.
 18. European Food Safety Authority (EFSA), Depner K., Gortazar C., Guberti V., Masiulis M., More S., et al. Epidemiological analyses of African swine fever in the Baltic States and Poland. *EFSA J.* 2017; 15 (11): e05068. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.5068.
 19. Gaudreault N. N., Madden D. W., Wilson W. C., Trujillo J. D., Richt J. A. African swine fever virus: An emerging DNA Arbovirus. *Front. Vet. Sci.* 2020; 7:215. DOI: 10.3389/fvets.2020.00215.
 20. Bellini S., Casadei G., De Lorenzi G., Tamba M. A review of risk factors of African swine fever incursion in pig farming within the European Union scenario. *Pathogens.* 2021; 10 (1):84. DOI: 10.3390/pathogens10010084.
 21. Podgórski T., Apollonio M., Keuling O. Contact rates in wild boar populations: Implications for disease transmission. *J. Wild. Mgmt.* 2018; 82 (6): 1210–1218. DOI: 10.1002/jwmg.21480.
 22. Pejsak Z., Truszczyński M., Niemczuk K., Kozak E., Markowska-Daniel I. Epidemiology of African swine fever in Poland since the detection of the first case. *Pol. J. Vet. Sci.* 2014; 17 (4): 665–672. DOI: 10.2478/pjvs-2014-0097.
 23. ENETWILD consortium, Acevedo P., Croft S., Smith G., Blanco-Aguilar A., Fernandez-Lopez J., et al. ENETwild modelling of wild boar distribution and abundance: update of occurrence and hunting data-based models. *EFSA Supporting Publications.* 2019; 16 (8):1674E. DOI: 10.2903/sp.efsa.2019.EN-1674.
 24. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW), More S., Miranda M. A., Bicout D., Bøtner A., Butterworth A., et al. African swine fever in wild boar. *EFSA J.* 2018; 16 (7):e05344. DOI: 10.2903/j.efsa.2018.5344.
 25. Petrova O. N., Korennoy F. I., Karaulov A. K. Brief analysis of the spread of ASF on the territory of the Russian Federation for 2007–2018 taking into account the wild boar range. *BIO.* 2018; 8: 26–37. eLIBRARY ID: 37307660. (in Russ.)
 26. Gervasi V., Marcon A., Bellini S., Guberti V. Evaluation of the efficiency of active and passive surveillance in the detection of African swine fever in wild boar. *Vet. Sci.* 2019; 7 (1):5. DOI: 10.3390/vetsci7010005.
 27. Iglesias I., Muñoz M. J., Montes F., Perez A., Gogin A., Kolbasov D., de la Torre A. Reproductive ratio for the local spread of African swine fever in wild boars in the Russian Federation. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (6): e237–e245. DOI: 10.1111/tbed.12337.
 28. Page M. J., McKenzie J. E., Bossuyt P. M., Boutron I., Hoffmann T. C., Mulrow C. D., et al. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *BMJ.* 2021; 372:n71. DOI: 10.1136/bmj.n71.
 29. Domínguez-Almendros S., Benítez-Parejo N., Gonzalez-Ramirez A. R. Logistic regression models. *Allergol. Immunopathol. (Madr).* 2011; 39 (5): 295–305. DOI: 10.1016/j.aller.2011.05.002.
 30. Bangdiwala S. I. Regression: binary logistic. *Int. J. Inj. Contr. Saf. Promot.* 2018; 25 (3): 336–338. DOI: 10.1080/17457300.2018.1486503.
 31. Zeileis A., Kleiber C., Jackman S. Regression models for count data in R. *Journal of Statistical Software.* 2008; 27 (8): 1–25. DOI: 10.18637/jss.v027.i08.
 32. Oļševskis E., Schulz K., Staubach C., Seržants M., Lamberg K., Pūle D., et al. African swine fever in Latvian wild boar – A step closer to elimination. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67 (6): 2615–2629. DOI: 10.1111/tbed.13611.
 33. Danilkin A. A. Management of wild boar and other animal resources in African swine fever Moscow: Tovarishchestvo nauchnykh izdaniy KMK; 2020. 150 p. Available at: <http://www.journalhunt.com/img/file/kabanachs-kniga.pdf>. (in Russ.)
 34. European Food Safety Authority (EFSA), Nielsen S. S., Alvarez J., Bicout D. J., Calistri P., Depner K., et al. ASF exit strategy: Providing cumulative evidence of the absence of African swine fever virus circulation in wild boar populations using standard surveillance measures. *EFSA J.* 2021; 19 (3):e06419. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6419.

35. Lange M., Guberti V., Thulke H.-H. Understanding ASF spread and emergency control concepts in wild boar populations using individual-based modelling and spatio-temporal surveillance data. *EFSA Supporting Publications*. 2018; 15 (11):1521E. DOI: 10.2903/sp.efsa.2018.EN-1521.

36. Danzetta M. L., Marenzoni M. L., Iannetti S., Tizzani P., Calistri P., Feliziani F. African swine fever: Lessons to learn from past eradication experiences. A systematic review. *Front. Vet. Sci.* 2020; 7:296. DOI: 10.3389/fvets.2020.00296.

37. Zakharova O. I., Titov I. A., Gogin A. E., Sevskikh T. A., Korennoy F. I., Kolbasov D. V., et al. African swine fever in the Russian Far East (2019–2020): Spatio-temporal analysis and implications for wild ungulates. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8:723081. DOI: 10.3389/fvets.2021.723081.

38. Schulz K., Staubach C., Blome S., Nurmoja I., Viltrop A., Conraths F. J., et al. How to demonstrate freedom from African swine fever in wild boar-Estonia as an example. *Vaccines (Basel)*. 2020; 8 (2):336. DOI: 10.3390/vaccines8020336.

39. Korennoy F. I., Gulenkin V. M., Karaulov A. K. African swine fever in wild boar in the territory of the Russian Federation: on regulation of wild boar population. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2016; 1 (29): 29–37. Available at: http://www.invetbio.spb.ru/avvb/AVVB_2016_01.pdf. (in Russ.)

40. Nurmoja I., Schulz K., Staubach C., Sauter-Louis C., Depner K., Conraths F. J., Viltrop A. Development of African swine fever epidemic among wild boar in Estonia – two different areas in the epidemiological focus. *Sci. Rep.* 2017; 7 (1):12562. DOI: 10.1038/s41598-017-12952-w.

41. De Freitas Costa E., Schneider S., Carlotto G. B., Cabalheiro T., de Oliveira Júnior M. R. Zero-inflated-censored Weibull and gamma regression models to estimate wild boar population dispersal distance. *Jpn. J. Stat. Data Sci.* 2021; 4: 1133–1155. DOI: 10.1007/s42081-021-00124-0.

Поступила в редакцию / Received 08.10.2021

Поступила после рецензирования / Revised 10.11.2021

Принята к публикации / Accepted 12.01.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Захарова Ольга Игоревна, научный сотрудник отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия.

Блохин Андрей Александрович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия.

Торопова Надежда Николаевна, микробиолог отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия.

Бурова Ольга Александровна, заместитель руководителя отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия.

Яшин Иван Вячеславович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия.

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

Olga I. Zakharova, Researcher, Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, Nizhny Novgorod, Russia.

Andrey A. Blokhin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Head of Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, Nizhny Novgorod, Russia.

Nadezhda N. Toropova, Microbiologist, Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, Nizhny Novgorod, Russia.

Olga A. Burova, Deputy Head of Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, Nizhny Novgorod, Russia.

Ivan V. Yashin, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, Nizhny Novgorod, Russia.

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



Сортировка клеток, инфицированных вирусом африканской чумы свиней, методом проточной цитометрии

А. С. Першин¹, И. В. Шевченко², Т. Н. Комова³, Али Мазлум⁴, Н. Н. Власова⁵, Е. О. Морозова⁶, А. С. Иголкин⁷, К. Н. Груздев⁸

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/0000-0001-6482-7814>, e-mail: shvchenko@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-9580-9299>, e-mail: komova@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5982-8393>, e-mail: mazlum@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-8707-7710>, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-0955-9586>, e-mail: morozova_eo@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

⁸ <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>, e-mail: gruzdev@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Панзоотия африканской чумы свиней продолжает свое распространение, а число пораженных стран и материальные потери увеличиваются. Так, в 2020–2021 гг. к перечню неблагополучных по африканской чуме свиней стран добавились Индия, Папуа – Новая Гвинея, Малайзия, Греция и Бутан. Борьбу с заболеванием затрудняет отсутствие коммерчески доступных и эффективных вакцин, что, в свою очередь, обуславливается недостатком знаний о патогенезе и иммунной защите при африканской чуме свиней. Детальное изучение факторов, влияющих на вирулентность вируса африканской чумы свиней и вызываемого им иммунного ответа, становится возможным при использовании его аттенуированных вариантов. Для этого применяют как естественно аттенуированные варианты вируса, так и варианты, аттенуированные в ходе длительного пассирования вируса на культурах клеток. Однако гетерогенность по признаку вирулентности, свойственная популяции вируса африканской чумы свиней, требует проведения дополнительного отбора инфицированных клеток с целью клонирования вируса. Классические культуральные методы клонирования вирусных частиц достаточно длительны и трудоемки, поэтому для отбора и клонирования инфицированных вирусом клеток с целью получения гомологичных вирусных линий целесообразно использовать сортировку клеток методом проточной цитометрии. В данной работе показаны результаты сортировки зараженных вирусом африканской чумы свиней клеток почки африканской зеленой мартишки CV-1 и костного мозга свиньи с помощью клеточного сортера MoFlo Astrios EQ в 96-луночные культуральные планшеты с целью получения популяции вируса, происходящего из одной зараженной клетки. После проведения сортировки инфицированных культур клеток по одной клетке в лунки 96-луночных планшетов частота обнаружения положительных на африканскую чуму свиней клеток в лунках составила 30% для клеток костного мозга свиньи и 20% – для CV-1.

Ключевые слова: африканская чума свиней, цитометрия, сортировка клеток, культура клеток

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

Для цитирования: Першин А. С., Шевченко И. В., Комова Т. Н., Мазлум Али, Власова Н. Н., Морозова Е. О., Иголкин А. С., Груздев К. Н. Сортировка клеток, инфицированных вирусом африканской чумы свиней, методом проточной цитометрии. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 114–120. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-114-120.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Иголкин Алексей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий референтной лабораторией по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: igolkin_as@arriah.ru.

Flow cytometry sorting of cells infected with African swine fever virus

A. S. Pershin¹, I. V. Shevchenko², T. N. Komova³, Ali Mazloun⁴, N. N. Vlasova⁵, E. O. Morozova⁶, A. S. Igolkin⁷, K. N. Gruzdev⁸

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

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

² <https://orcid.org/0000-0001-6482-7814>, e-mail: shvchenko@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-9580-9299>, e-mail: komova@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5982-8393>, e-mail: mazlum@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-8707-7710>, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-0955-9586>, e-mail: morozova_eo@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>, e-mail: igolkin_as@arriah.ru⁸ <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>, e-mail: gruzdev@arriah.ru

SUMMARY

The African swine fever panzootic is continuing to spread, and the number of affected countries and material losses are increasing. In particular, India, Papua New Guinea, Malaysia, Greece and Bhutan joined the list of ASF infected countries in 2020–2021. The disease control is hindered by the lack of commercially available and effective vaccines, which, in its turn, is attributable to the insufficient knowledge of ASF pathogenesis and immune defense against the disease. The use of attenuated virus variants enables a thorough investigation of the factors influencing the virulence of African swine fever virus and the immune response to it. This involves the use of naturally attenuated virus variants, as well as of the variants attenuated by a long-term passaging of the virus in cell cultures. However, virulence heterogeneity characteristic of the ASF virus population, necessitates the additional selection of infected cells for the virus cloning. Conventional culture-based techniques for virus particle cloning are rather time- and labour-consuming; it is therefore appropriate to use flow cytometry cell sorting for the selection and cloning of virus infected cells with a view of selecting homologous virus lineages. The paper presents the results of sorting of African green monkey kidney cells (CV-1) and porcine bone marrow cells infected with African swine fever virus; the cells were sorted into the 96-well culture plates using a MoFlo Astrios EQ cell sorter in order to isolate a population of the virus originating from one infected cell. After the single cell sorting of the infected cell cultures into the 96-well plates, ASF positive cell detection rates in the plate wells were 30% for porcine bone marrow cells and 20% for CV-1.

Keywords: African swine fever, cytometry, cell sorting, cell culture

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

For citation: Pershin A. S., Shevchenko I. V., Komova T. N., Mazloum Ali, Vlasova N. N., Morozova E. O., Igolkin A. S., Gruzdev K. N. Flow cytometry sorting of cells infected with African swine fever virus. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 114–120. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-114-120.

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

For correspondence: Alexey S. Igolkin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: igolkin_as@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) – контагиозная септическая болезнь, поражающая как домашних, в том числе декоративных, свиней, так и диких кабанов. У восприимчивых животных болезнь может проявляться остро, подостро, хронически и бессимптомно [1, 2]. Характер проявления болезни зависит как от биологических свойств вируса, вызвавшего ее развитие, так и от индивидуальных особенностей строения иммунной системы животного. Глобальная ситуация по АЧС продолжает ухудшаться, угрожая мировой продовольственной безопасности. На данный момент болезнью поражено более 50 стран и к их числу постоянно добавляются новые. В 2019 г. АЧС зарегистрировали в Монголии, Вьетнаме, Камбодже, Северной и Южной Корее, Лаосе, Словакии, Сербии, Мьянме, Индонезии, на Филиппинах и Тиморе. В 2020 г. к ним прибавились Греция, Папуа – Новая Гвинея, Индия и Германия, а в 2021 г. – Малайзия и Бутан. Таким образом, АЧС продолжает распространение по всему миру, поражая страны на разных континентах, различающиеся по численности населения, уровню развития сельского хозяйства и ветеринарного законодательства. Вместе с числом пострадавших от АЧС стран возрастает и ущерб, причиненный болезнью. В частности, продолжающаяся эпизоотия в Китае, где уже уничтожено и погибло более 100 млн свиней, серьезно затронула мировое свиноводство [3–5].

Несмотря на достигнутые в последнее время успехи в изучении возбудителя АЧС и создании средств специфической профилактики болезни, коммерчески до-

ступные и эффективные вакцины все еще отсутствуют. Одной из причин этого является недостаток знаний о патогенезе и иммунной защите при АЧС. В то же время сам вирус АЧС обладает целым рядом механизмов для ускользания от иммунного ответа носителя, в числе которых способность эффективно размножаться в макрофагах, изменять выработку цитокинов и интерлейкинов, а также избегать нейтрализации специфическими антителами [6, 7].

Для исследования данных процессов применяют штаммы вируса АЧС, различающиеся по вирулентности, контагиозности, реактогенности и выраженности клинических признаков, в том числе аттенуированные естественным путем либо в ходе длительного пассирования вируса на культурах клеток. Такие штаммы необходимы как для определения факторов вирулентности и патогенности вируса АЧС, так и при разработке на их основе вакцинных препаратов [8–11]. Однако, согласно литературным свидетельствам, популяция вируса АЧС даже в пределах одного географического региона или крупного очага болезни может быть неоднородна по своим биологическим свойствам и одновременно включать штаммы, различающиеся по вирулентности и гемадсорбирующей активности в культурах клеток. Об этом косвенно свидетельствуют как данные, полученные при изучении изолятов, выделенных из клещей, так и нарастающее выявление сероположительных проб у кабанов в Восточной Европе [12, 13]. Для получения достоверных результатов требуется проведение анализа свойств не всей разнородной популяции вируса, а гомогенных по своему

составу образцов вирусного материала. Таким образом, перед исследователями стоит задача по выделению клонов или однородных по своим биологическим свойствам чистых линий вируса.

В основе всех методик, применяемых при получении подобных клонов, лежит разделение гетерогенной вирусной смеси на отдельные пробы и определение их биологических свойств для выделения субпопуляций вируса с их последующей изоляцией и размножением единичных инфицированных клеток или вирусных частиц. Тем не менее классические культуральные методы клонирования вирусных частиц имеют ряд недостатков, в частности, они достаточно длительны и трудоемки. Поэтому для упрощения и автоматизации отбора и клонирования инфицированных вирусом клеток целесообразно использовать их сортировку методом проточной цитометрии. Кроме этого, сортировка клеток может применяться при обогащении или очистке клеточных препаратов в различных научно-исследовательских работах, а цитометрия – также для определения абсолютного числа клеток в исследуемом образце с применением специальных калибровочных счетных частиц или при помощи волюметрического метода [14–16].

Для достижения всех этих целей могут быть применены различные методы, основанные на определенных физических принципах, которые можно классифицировать как активные и пассивные. Активные системы обычно используют внешние силы (акустические, механические, электрические, магнитные и оптические воздействия) для перемещения клеток при сортировке, в то время как пассивные системы используют силы инерции, фильтры с различным размером пор и механизмы адгезии [16–18].

Метод флуоресцентной сортировки (fluorescence-activated cell sorting, FACS) позволяет обнаруживать и очищать специфические популяции клеток, основываясь на их фенотипических маркерах, таких как относительный размер, гранулярность, наличие на их поверхности или в пространстве, ограниченном клеточной мембраной, специфических кластеров дифференциации, определяемых методом проточной цитометрии. Этот метод позволяет исследователям лучше понять характеристики целевой популяции без влияния других клеток.

На данный момент методы флуоресцентной сортировки автоматизированы и надежны. Современные проточные системы способны анализировать и сортировать частицы по различным критериям со скоростью более 50 000 клеток в секунду. В традиционных FACS-системах клетки с флуоресцентной меткой, передвигаясь в ламинарном потоке жидкости, проходят через сфокусированный лазерный луч, который попадает на один или несколько фотодетекторов. Затем полученный флуоресцентный сигнал анализируется, чтобы сопоставить каждому зарегистрированному событию пересечения лазерного луча определенный тип клетки. После типирования каждая отдельная клетка может быть направлена в индивидуальную лунку культурального планшета в ходе дискретной сортировки. Для этого частица инкапсулируется в каплю аэрозоля, которой придается электрический заряд. При прохождении заряженной капли через заряженные пластины она электростатически сортируется [14, 16].

Чувствительность метода FACS настолько высока, что позволяет сортировать даже единичные клетки для проведения их последующего секвенирования. Тем не менее данный метод имеет и свои недостатки. Сортировка может быть затруднена в случае, если целевые клетки или частицы имеют высокий уровень автофлуоресценции. Кроме того, связывание флуоресцентно-конъюгированных антител с их специфическими лигандами, расположенными на клетках, может изменять функциональную активность отсортированных клеток, влияя таким образом на результаты последующих экспериментов. Поэтому для первичной сортировки культуры клеток, зараженной вирусом АЧС, были выбраны методы, основанные на оценке клеток по их размеру и гранулярности. И, наконец, для правильной эксплуатации системы проточной сортировки обычно требуется высококвалифицированный персонал [17].

Необходимо отметить, что метод флуоресцентной сортировки может быть использован для работы не только с клетками, но и для сортировки иных дискретных частиц, в том числе внутриклеточных везикул, и даже для выделения отдельных вирионов. Тем не менее практическая реализация этой идеи вызывает ряд затруднений, связанных как с особенностями морфологии вирионов, так и со строением оптической системы прибора [18–22].

Прежде всего необходимо наработать вирус в культуре клеток в достаточном титре, после чего зараженные клетки требуется разрушить для высвобождения из них вирионов. Для разрушения клеток могут быть применены различные методы, в том числе цикличная их заморозка и оттаивание, ультразвуковая соникация, лизис клеточных мембран или разрушение клеток посредством изменения осмотического давления [23]. В результате образуется суспензия, содержащая в своем составе остаточные живые, мертвые и гибнущие клетки, клеточный дебрис, размеры которого могут варьировать, и вирионы. При этом фракция вирионов также будет неоднородна по своему составу, поскольку в нее войдут как зрелые вирионы, способные инфицировать живые клетки, так и незрелые вирионы, не обладающие инфекционной активностью, а кроме того, разрушенные фрагменты вирионов, высвобожденная вирусная нуклеиновая кислота и пустые вирусные капсиды, не прошедшие до конца процесс сборки. При изучении вируса АЧС к этому перечню добавятся также зрелые вирионы, приобретшие суперкапсидную оболочку из клеточной мембраны после завершения ими отпочковывания от клетки. Таким образом, получаемая после разрушения клеток вирусосодержащая суспензия требует ее дополнительной очистки от остатков клеточного детрита и нефункциональных вирионов.

В дополнение к вышеназванному ограничению на сортировку отдельных вирионов накладывают особенности строения оптической системы используемого сортера. Ввиду того что размер вириона составляет лишь сотни нанометров, в то время как средние размеры эукариотических клеток достигают от 10 до 50 мкм, для обнаружения отдельного вириона необходимо применение высокочувствительной системы детекции, способной не только регистрировать даже малейшие изменения яркости лазерного луча, вызванные прохождением через него вирусной частицы, но и обладающей высоким соотношением «сигнал – шум», необходимым для того, чтобы эффективно отделять целевые

сигналы от фонового шума, неизбежно возникающего в процессе анализа из-за ряда причин физического характера, в том числе взаимного перекрывания частот флуоресценции применяемых красителей, электронного шума датчиков и рассеивания света при его попадании на молекулы воды. Использование меченных флуорохромами антител к вирусу также не позволяет в полной мере решить проблему детекции отдельного вириона, поскольку из-за малой площади поверхности вириона на его поверхности физически может разместиться лишь ограниченное количество антител, конъюгированных с красителем. Так, размер зрелого вириона вируса АЧС может достигать не более чем 200 нм. Кроме того, указанные антитела будут связываться с их специфическими лигандами, расположенными не только на зрелых и инфекционных вирионах, но и на поверхности вирионов-пустышек и особенно их обломков, что может приводить к росту уровня фоновой флуоресценции и затруднению детекции [22, 24].

На основании вышеизложенного в ходе данной работы была поставлена цель – отработать метод сортировки из гетерогенных по составу культур клеток костного мозга свиньи (КМС) и перевиваемой культуры клеток почки африканской зеленой марышки (CV-1) единичных клеток, инфицированных вирусом АЧС, в 96-луночные планшеты для отбора наиболее перспективных клонов вируса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для заражения чувствительных культур клеток применяли штамм «АЧС/ВНИИЗЖ/CV-1» вируса АЧС, который был получен в результате адаптации вируса АЧС штамма «8 № 2/Одинцово-02/14» с помощью последовательных пассажей в перевиваемой культуре клеток CV-1. Данный штамм характеризуется умеренной инфекционной активностью, способен накапливаться в культурах клеток КМС и CV-1 в титрах от 6,0 до 7,0 $\lg \text{ГДЭ}_{50}/\text{см}^3$, при этом его летальность для свиней всех возрастных групп не превышает 37,5%. Также важно отметить, что данный вариант вируса сохранил способность инфицировать первичные культуры клеток свиньи [25].

Культивирование штамма «АЧС/ВНИИЗЖ/CV-1» вируса АЧС в первичной и перевиваемой культурах клеток проводили в лабораторных условиях ФГБУ «ВНИИЗЖ», предназначенных для работ с возбудителями II–IV групп патогенности. Штамм «АЧС/ВНИИЗЖ/CV-1» вируса АЧС получали в лиофилизированном виде из Государственной коллекции штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ». В ходе выполнения работ применяли две культуры клеток: первичную культуру клеток КМС, которую выращивали в питательной среде Игла с добавлением в нее 20% по объему бычьей фетальной сыворотки, а также перевиваемую культуру клеток CV-1, которую выращивали в питательной среде Игла с добавлением 10% бычьей фетальной сыворотки.

Для получения заражающей вируссодержащей жидкости штамм «АЧС/ВНИИЗЖ/CV-1» вируса АЧС культивировали в пластиковых культуральных матриксах объемом 25 см^3 при температуре +37 °C. После инкубирования в течение 72 ч культуры клеток, инфицированной вирусом АЧС, монослой снимали с помощью раствора трипсина, затем переносили в центрифужные пробирки и центрифугировали его для осаждения клеточного дебриса, удаляли супернатант и ресуспенди-

ровали в физиологическом растворе. Полученные образцы использовали для сортировки.

Титр вируса в испытуемом образце определяли при помощи реакции гемадсорбции (РГАД) по стандартной методике. Инфекционный титр вируса вычисляли по методу Кербера или Рида и Менча и выражали в $\lg \text{ГДЭ}_{50}/\text{см}^3$ [26].

Для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали «Тест-систему для диагностики африканской чумы свиней методом полимеразной цепной реакции с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» согласно инструкции производителя.

Сортировку клеток проводили с использованием клеточного сортера MoFlo Astrios EQ (Beckman Coulter, США) после его соответствующей калибровки.

Для дискриминации так называемых клеточных дублетов, представляющих собой агрегаты из двух или более клеток, особенно при исследовании недостаточно дезагрегированных образцов, а также когда при сортировке используются более высокие скорости потока жидкости, использовали программный анализ высоты, площади и ширины импульса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Поскольку в первичных культурах клеток свиней возбудитель АЧС способен репродуцироваться без предварительной адаптации, их широко используют для работы с вирусом. В настоящих исследованиях была выбрана первичная культура клеток КМС, которая обладает высокой чувствительностью к вирусу АЧС, а его размножение в ней сопровождается проявлением гемадсорбции и деструкцией инфицированных клеток.

Первоначально проводили сбор не менее 50 тысяч событий (реакций фотоэлемента на изменение интенсивности лазерного луча в результате пролета частицы), затем дискриминировали дублеты клеток,

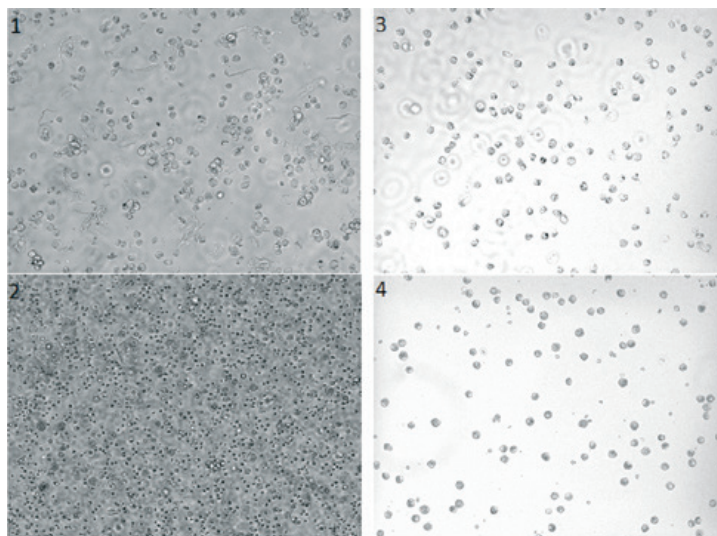


Рис. 1. Микрофотография суспензии клеток до (1; 2) и после (3; 4) ее сортировки, полученная с помощью оптического микроскопа (увеличение 460х): сверху – культура клеток КМС; внизу – культура клеток CV-1

Fig. 1. Cell suspension micrographs taken through an optical microscope (460× magnification) before (1; 2) and after (3; 4) its sorting: upper images – PBM cell culture; lower images – CV-1 cell culture

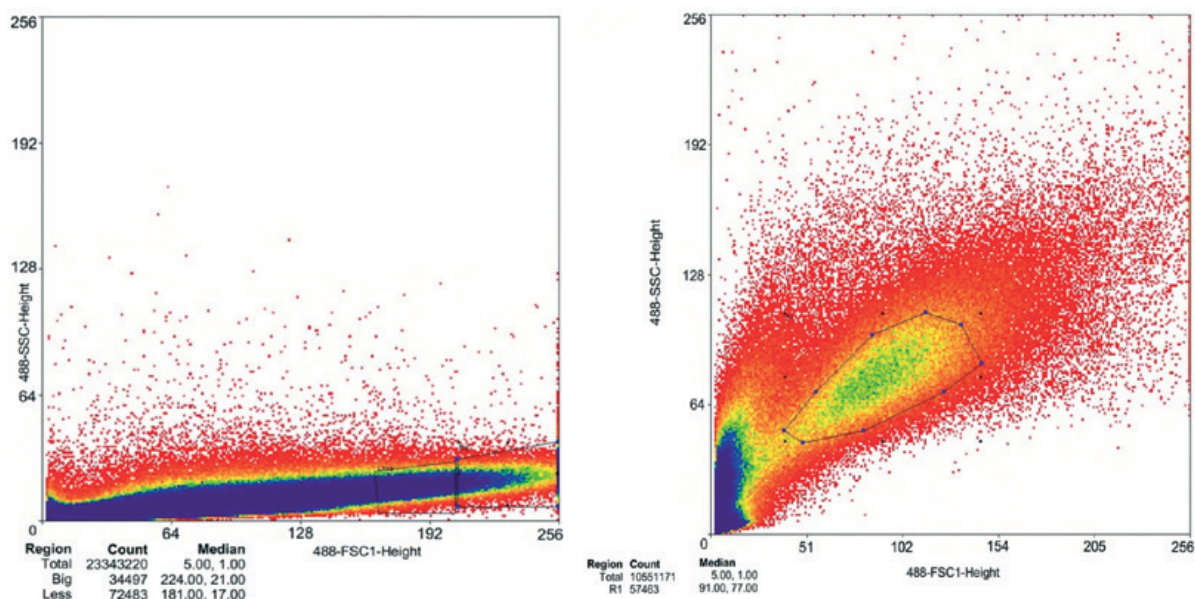


Рис. 2. График распределения клеток КМС (слева) и CV-1 (справа) согласно соотношению бокового (ось ординат) и прямого (ось абсцисс) светорассеивания. Области сортировки выделены рамками

Fig. 2. Side (ordinate) versus forward scatter (abscissa) plots for PBM cells (left image) and CV-1 cells (right image). Gated regions are shown

гейтировали клеточную популяцию по параметрам прямого и бокового светорассеивания и сортировали клетки на предметное стекло для их визуального изучения под микроскопом при увеличении 460х. Для ускорения сортировки на данном этапе выставляли низкую чистоту сортировки, позволяющую сортировать капли с двойными и неправильно расположенными частицами. Как видно из результатов, представленных на рисунке 1, полученная суспензия имеет практически однородный по морфологическим признакам клеточный состав.

Далее сортировку проводили по одной клетке в 96-луночный культуральный планшет, заполненный по 0,01 см³ на лунку средой Игла с добавлением 20% бычьей фетальной сыворотки, оставляя 16 лунок для контроля. При этом чистоту сортировки увеличивали таким образом, чтобы прибор отбрасывал капли, в которых присутствует несколько частиц, либо частица смещена от центра, что соответствует режиму сортировки Single 0,5. Целевая область отбора представлена на рисунке 2.

Для получения и клонирования новых вариантов аттенуированного вируса АЧС со стабильными культурально-биологическими свойствами, предназначенного для дальнейшего изучения особенностей иммуногенеза при АЧС и проведения генетических модификаций, проводили сортировку вируса, адаптированного к культуре клеток CV-1. При этом использовали аналогичные параметры сортировки.

После проведения сортировки культуры клеток КМС частота обнаружения лунок, положительных на АЧС в РГАД, составила 30%. Так как гемадсорбция проявляется только на первичных культурах клеток, клетки CV-1 исследовали в ПЦР на наличие фрагментов генома вируса. Для образцов, полученных с культуры клеток CV-1, с использованием метода ПЦР положительные лунки были обнаружены в 20% случаев. Наличие отрицательных лунок объясняется возможностью сорти-

ровки в них неинфицированных клеток либо клеток с вирусом, потерявшим свою инфекционность. Также следует учитывать, что в момент сортировки клеток происходит приложение к ним механических сил, что повышает риск повреждения клетки [16].

Кроме того, создание аэрозолей в момент сортировки потенциально может приводить к попаданию вируса АЧС в нецелевые лунки. Однако в нашем эксперименте вирус в контрольных интактных частях планшета (16 лунок) не обнаруживали.

Полученные в результате сортировки клоны вируса были наработаны на перевиваемых и первичных культурах клеток, что позволило подтвердить присутствие неинактивированного вируса АЧС в отобранных клетках. После наработки достаточного объема вируса из единичных сортированных клеток его использовали при проведении биологической пробы с заражением естественно восприимчивых животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, метод сортировки клеток с использованием проточной цитометрии по физическим параметрам (их размер и гранулярность) позволяет получать гомогенные обогащенные суспензии клеток. В случае сортировки инфицированных клеток в 96-луночный планшет метод позволяет проводить клонирование вируса с высокой скоростью и эффективностью. Однако максимальной эффективности можно будет добиться при использовании меченых флуорохромами антител к вирусу АЧС для сортировки непосредственно его внеклеточных вирионов, что является целью дальнейшей работы специалистов референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ремыга С. Г., Першин А. С., Шевченко И. В., Иголкин А. С., Шевцов А. А. Клинические и патологоанатомические изменения у диких европейских кабанов и домашних свиней при заражении вирусом африканской чумы свиней. *Ветеринария сегодня*. 2016; (3): 46–51.

2. Шевченко И. В., Ремыга С. Г., Першин А. С. и др. 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 по патологической анатомии животных (20–25 октября 2014 г.)*. М.: МГАВМиБ; 2014; 82–84.

3. 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.

4. European Food Safety Authority (EFSA), Desmecht D., Gerbier G., Gortázar Schmidt C., Grigaliuniene V., Helyes G., et al. Epidemiological analysis of African swine fever in the European Union (September 2019 to August 2020). *EFSA J.* 2021; 19 (5):e06572. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6572.

5. Zhu J. J., Ramanathan P., Bishop E. A., O'Donnell V., Gladue D. P., Borca M. V. Mechanisms of African swine fever virus pathogenesis and immune evasion inferred from gene expression changes in infected swine macrophages. *PLoS One*. 2019; 14 (11):e0223955. DOI: 10.1371/journal.pone.0223955.

6. Teklue T., Sun Y., Abid M., Luo Y., Qiu H. J. Current status and evolving approaches to African swine fever vaccine development. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67 (2): 529–542. DOI: 10.1111/tbed.13364.

7. Pikalo J., Zani L., Hühr J., Beer M., Blome S. Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar – Lessons learned from recent animal trials. *Virus Res.* 2019; 271:197614. DOI: 10.1016/j.virusres.2019.04.001.

8. Borca M. V., Carrillo C., Zsak L., Laegreid W. W., Kutish G. F., Neilan J. G., et al. Deletion of a CD2-like gene, 8-DR, from African swine fever virus affects viral infection in domestic swine. *J. Virol.* 1998; 72 (4): 2881–2889. DOI: 10.1128/JVI.72.4.2881-2889.1998.

9. Shields C. W. IV, Reyes C. D., López G. P. Microfluidic cell sorting: a review of the advances in the separation of cells from debulking to rare cell isolation. *Lab Chip*. 2015; 15 (5): 1230–1249. DOI: 10.1039/c4lc01246a.

10. Lacasta A., Monteagudo P. L., Jiménez-Marín Á., Accensi F., Ball-ester M., Argilaguet J., et al. Live attenuated African swine fever viruses as ideal tools to dissect the mechanisms involved in viral pathogenesis and immune protection. *Vet. Res.* 2015; 46:135. DOI: 10.1186/s13567-015-0275-z.

11. 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.

12. Boinas F. S., Hutchings G. H., Dixon L. K., Wilkinson P. J. Characterization of pathogenic and non-pathogenic African swine fever virus isolates from *Ornithodoros erraticus* inhabiting pig premises in Portugal. *J. Gen. Virol.* 2004; 85 (Pt 8): 2177–2187. DOI: 10.1099/vir.0.80058-0.

13. Oļševskis E., Schulz K., Staubach C., Seržants M., Lamberg A., Pūle D., et al. African swine fever in Latvian wild boar – A step closer to elimination. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67 (6): 2615–2629. DOI: 10.1111/tbed.13611.

14. Orfao A., Ruiz-Arguelles A. General concepts about cell sorting techniques. *Clin. Biochem.* 1996; 29 (1): 5–9. DOI: 10.1016/0009-9120(95)02017-9.

15. Liou Y. R., Wang Y. H., Lee C. Y., Li P. C. Buoyancy-activated cell sorting using targeted biotinylated albumin microbubbles. *PLoS One*. 2015; 10 (5):e0125036. DOI: 10.1371/journal.pone.0125036.

16. Pereira H., Schulze P. S., Schüler L. M., Santos T. F., Barreira L., Varela J. Fluorescence activated cell-sorting principles and applications in microalgal biotechnology. *Algal Research*. 2018; 30: 113–120. DOI: 10.1016/j.algal.2017.12.013.

17. Sasagawa Y., Nikaido I., Hayashi T., Danno H., Uno K. D., Imai T., Ueda H. R. Quartz-Seq: a highly reproducible and sensitive single-cell RNA sequencing method, reveals non-genetic gene-expression heterogeneity. *Genome Biol.* 2013; 14 (4):R31. DOI: 10.1186/gb-2013-14-4-r31.

18. Liao X., Makris M., Luo X. M. Fluorescence-activated cell sorting for purification of plasmacytoid dendritic cells from the mouse bone marrow. *J. Vis. Exp.* 2016; 117:e54641. DOI: 10.3791/54641.

19. Ender F., Zamzow P., Bubnoff N. V., Gieseler F. Detection and quantification of extracellular vesicles via FACS: Membrane labeling matters! *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 21 (1):291. DOI: 10.3390/ijms21010291.

20. Schierer S., Ostalecki C., Zinser E., Lamprecht R., Plosnita B., Stich L., et al. Extracellular vesicles from mature dendritic cells (DC) differentiate monocytes into immature DC. *Life Sci. Alliance*. 2018; 1 (6):e201800093. DOI: 10.26508/lsa.201800093.

21. Lippé R. Flow virometry: a powerful tool to functionally characterize viruses. *J. Virol.* 2018; 92 (3):e01765-17. DOI: 10.1128/JVI.01765-17.

22. Shehadul Islam M., Aryasomayajula A., Selvaganapathy P. R. A review on macroscale and microscale cell lysis methods. *Micromachines*. 2017; 8 (3):83. DOI: 10.3390/mi8030083.

23. Galindo I., Alonso C. African swine fever virus: A review. *Viruses*. 2017; 9 (5):103. DOI: 10.3390/v9050103.

24. Власова Н. Н., Жуков И. Ю., Мазлум Али, Шарыпова Д. В., Першин А. С., Иголкин А. С. Штамм «АЧС/ВНИИЗЖ/СВ-1» вируса африканской чумы свиней, со сниженной вирулентностью для свиней, для вирусологических, диагностических, молекулярно-генетических и мониторинговых исследований. Патент 2675535 Российская Федерация, МПК C12N 7/00 (2006.01). ФГБУ «ВНИИЗЖ». № 2018117990. Заявл. 15.05.2018. Опубликовано. 19.12.2018. Бюл. № 35. Режим доступа: <https://patentimages.storage.googleapis.com/9b/54/86/bad913ad3ea42a/RU2675535C1.pdf>.

25. Мазлум Али, Шарыпова Д. В., Гаврилова В. Л., Пузанкова О. С., Жуков И. Ю., Аронова Е. В. и др. Методические рекомендации по выделению и титрованию вируса африканской чумы свиней в культуре клеток селезенки свиней: утв. 15.03.2019 № 09-19. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2019. 24 с.

REFERENCES

1. Remyga S. G., Pershin A. S., Shevchenko I. V., Igolkin A. S., Shevtsov A. A. Clinical and post-mortem signs in European wild boars and domestic pigs infected with African swine fever virus. *Veterinary Science Today*. 2016; (3): 46–51. (in Russ.)

2. Shevchenko I. V., Remyga S. G., Pershin A. S., et al. Kliniko-anatomicheskoe proyavlenie afrikanской chumy svinei pri zarazhenii raznymi metodami virusom, vydelennym ot dikogo kabana = Clinical and anatomical manifestations of African swine fever as a result of using various methods of infection with the virus isolated from a wild boar. *Sovremennye problemy patologicheskoy anatomii, patogeneza i diagnostiki boleznei zhivotnykh: materialy 18-j Mezhdunarodnoy nauchno-metodicheskoy konferentsii po patologicheskoy anatomii zhivotnykh (20–25 oktyabrya 2014 g.) = Current issues of anatomical pathology, pathogenesis and diagnosis of animal diseases: proceedings of the 18th International Scientific and Methodical Conference on Animal Anatomical Pathology (20–25 October 2014)*. Moscow: SAVMB, 2014; 82–84. (in Russ.)

3. 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.

4. European Food Safety Authority (EFSA), Desmecht D., Gerbier G., Gortázar Schmidt C., Grigaliuniene V., Helyes G., et al. Epidemiological analysis of African swine fever in the European Union (September 2019 to August 2020). *EFSA J.* 2021; 19 (5):e06572. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6572.

5. Zhu J. J., Ramanathan P., Bishop E. A., O'Donnell V., Gladue D. P., Borca M. V. Mechanisms of African swine fever virus pathogenesis and immune evasion inferred from gene expression changes in infected swine macrophages. *PLoS One*. 2019; 14 (11):e0223955. DOI: 10.1371/journal.pone.0223955.

6. Teklue T., Sun Y., Abid M., Luo Y., Qiu H. J. Current status and evolving approaches to African swine fever vaccine development. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67 (2): 529–542. DOI: 10.1111/tbed.13364.

7. Pikalo J., Zani L., Hühr J., Beer M., Blome S. Pathogenesis of African swine fever in domestic pigs and European wild boar – Lessons learned from recent animal trials. *Virus Res.* 2019; 271:197614. DOI: 10.1016/j.virusres.2019.04.001.

8. Borca M. V., Carrillo C., Zsak L., Laegreid W. W., Kutish G. F., Neilan J. G., et al. Deletion of a CD2-like gene, 8-DR, from African swine fever virus affects viral infection in domestic swine. *J. Virol.* 1998; 72 (4): 2881–2889. DOI: 10.1128/JVI.72.4.2881-2889.1998.

9. Shields C. W. IV, Reyes C. D., López G. P. Microfluidic cell sorting: a review of the advances in the separation of cells from debulking to rare cell isolation. *Lab Chip*. 2015; 15 (5): 1230–1249. DOI: 10.1039/c4lc01246a.

10. Lacasta A., Monteagudo P. L., Jiménez-Marín Á., Accensi F., Ball-ester M., Argilaguet J., et al. Live attenuated African swine fever viruses as ideal tools to dissect the mechanisms involved in viral pathogenesis and immune protection. *Vet. Res.* 2015; 46:135. DOI: 10.1186/s13567-015-0275-z.

11. 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.

12. Boinas F. S., Hutchings G. H., Dixon L. K., Wilkinson P. J. Characterization of pathogenic and non-pathogenic African swine fever virus isolates from *Ornithodoros erraticus* inhabiting pig premises in Portugal. *J. Gen. Virol.* 2004; 85 (Pt 8): 2177–2187. DOI: 10.1099/vir.0.80058-0.

13. Oļševskis E., Schulz K., Staubach C., Seržants M., Lamberg A., Pūle D., et al. African swine fever in Latvian wild boar – A step closer to elimination. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67 (6): 2615–2629. DOI: 10.1111/tbed.13611.

14. Orfao A., Ruiz-Arguelles A. General concepts about cell sorting techniques. *Clin. Biochem.* 1996; 29 (1): 5–9. DOI: 10.1016/0009-9120(95)02017-9.

15. Liou Y. R., Wang Y. H., Lee C. Y., Li P. C. Buoyancy-activated cell sorting using targeted biotinylated albumin microbubbles. *PLoS One*. 2015; 10 (5):e0125036. DOI: 10.1371/journal.pone.0125036.
16. Pereira H., Schulze P. S., Schüler L. M., Santos T. F., Barreira L., Varela J. Fluorescence activated cell-sorting principles and applications in microalgal biotechnology. *Algal Research*. 2018; 30: 113–120. DOI: 10.1016/j.algal.2017.12.013.
17. Sasagawa Y., Nikaido I., Hayashi T., Danno H., Uno K. D., Imai T., Ueda H. R. Quartz-Seq: a highly reproducible and sensitive single-cell RNA sequencing method, reveals non-genetic gene-expression heterogeneity. *Genome Biol.* 2013; 14 (4):R31. DOI: 10.1186/gb-2013-14-4-r31.
18. Liao X., Makris M., Luo X. M. Fluorescence-activated cell sorting for purification of plasmacytoid dendritic cells from the mouse bone marrow. *J. Vis. Exp.* 2016; 117:e54641. DOI: 10.3791/54641.
19. Ender F., Zamzow P., Bubnoff N. V., Gieseler F. Detection and quantification of extracellular vesicles via FACS: Membrane labeling matters! *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 21 (1):291. DOI: 10.3390/ijms21010291.
20. Schierer S., Ostalecki C., Zinser E., Lamprecht R., Plosnita B., Stich L., et al. Extracellular vesicles from mature dendritic cells (DC) differentiate monocytes into immature DC. *Life Sci. Alliance*. 2018; 1 (6):e201800093. DOI: 10.26508/lsa.201800093.
21. Lippé R. Flow virometry: a powerful tool to functionally characterize viruses. *J. Virol.* 2018; 92 (3):e01765-17. DOI: 10.1128/JVI.01765-17.
22. Shehadul Islam M., Aryasomayajula A., Selvaganapathy P. R. A review on macroscale and microscale cell lysis methods. *Micromachines*. 2017; 8 (3):83. DOI: 10.3390/mi8030083.
23. Galindo I., Alonso C. African swine fever virus: A review. *Viruses*. 2017; 9 (5):103. DOI: 10.3390/v9050103.
24. Vlasova N. N., Zhukov I. Yu., Mazlum Ali, Sharypova D. V., Pershin A. S., Igolkin A. S. ACHS/VNII ZZH/CV-1 strain of African swine fever, with decreased virulence for pigs, for virologic, diagnostic, molecular-genetic and surveillance studies. Patent No. 2675535 Russian Federation, Int. Cl. C12N 7/00 (2006.01). FGBI "ARRIAH". Application: 2018117990. Application published: 15.05.2018. Date of publication: 19.12.2018. Bull. No. 35. Available at: <https://patentimages.storage.googleapis.com/9b/54/86/ba-d913ad3ea42a/RU2675535C1.pdf>. (in Russ.)
25. Mazlum Ali, Sharypova D. V., Gavrilova V. L., Puzankova O. S., Zhukov I. Yu., Aronova E. V., et al. Metodicheskie rekomendatsii po vydeleniyu i titrovaniyu virusa afrikanской chumy sviney v kul'ture kletok selezenki sviney = Methodical guidelines for the isolation and titration of African swine fever virus in porcine spleen cell culture: approved on 15.03.2019 No. 09-19. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2019. 24 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 21.10.2021

Поступила после рецензирования / Revised 16.11.2021

Принята к публикации / Accepted 11.01.2022

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.

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

Комова Татьяна Николаевна, аспирант, сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Мазлум Али, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Власова Наталья Никифоровна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник 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.

Груздев Константин Николаевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра 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.

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

Tatiana N. Komova, Post-Graduate Student, Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Ali Mazloun, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Natalia N. Vlasova, Doctor of Science (Biology), Chief Researcher, 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.

Konstantin N. Gruzdev, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.



Морфологические особенности плаценты крупного рогатого скота при вирусных, бактериальных и протозойных инфекциях

О. В. Соколова¹, Л. И. Дроздова², И. А. Шкуратова³

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

¹ <http://orcid.org/0000-0002-1169-4090>, e-mail: nauka_sokolova@mail.ru

² <http://orcid.org/0000-0001-9689-1781>, e-mail: drozdova43@mail.ru

³ <http://orcid.org/0000-0003-0025-3545>, e-mail: info@urnivi.ru

РЕЗЮМЕ

Проблема внутриутробного инфицирования плода является одной из ведущих в акушерской практике и перинатологии в связи с высоким уровнем инфицирования беременных коров, опасностью нарушения развития плода и рождения больного теленка. Осложнения беременности возникают при вирусных и бактериальных инфекциях, а также внутриутробных протозоозах, когда возбудитель проникает в матку восходящим или нисходящим путем с дальнейшим трансплацентарным инфицированием плода. Проведены морфологические исследования плаценты коров черно-пестрой породы, инфицированных возбудителями вирусной диареи крупного рогатого скота, хламидиоза и неоспороза, наличие которых подтверждали серологическими и молекулярно-генетическими методами. Материалом для гистологических исследований служила плодная часть плаценты. Фиксацию материала после отбора осуществляли в 10%-м растворе нейтрального формалина, затем использовали метод проводки этиловый спирт — ксилол с последующим заключением в парафин. Для изучения морфологических структур изготовленные срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и проводили анализ на световом микроскопе Leica DM 1000 при увеличении 100×, 200×, 400×, 630×. Установлено, что морфофункциональные изменения в системе «мать — плацента — плод» при вирусной диарее крупного рогатого скота характеризуются инволютивно-дистрофическими изменениями с нарушениями микроциркуляции и развитием воспалительного процесса на иммунной основе. При внутриутробном инфицировании *Chlamydia abortus* в системе «мать — плацента — плод» у коров наблюдается комплекс деструктивных морфологических и функциональных изменений инфекционно-токсического характера с выраженной воспалительной реакцией, вовлечением в патологический процесс кровеносных сосудов и развитием эндотелиальной дисфункции с некротизацией тканей при хронизации процесса. Наличие ячеистых структур в плаценте и внутренней части пупочного канатика является патогномоничным признаком хламидиоза. Подтверждена роль трансплацентарной передачи *Neospora caninum* у крупного рогатого скота, базофильно окрашенные неоспоры выявлены не только в тканях плаценты, но и в гистологических срезах сердца и печени плодов. Характерным диагностическим признаком является наличие базофильно окрашенных неоспор в органах матери и плода, плаценте и межворсинчатом пространстве. В ходе исследований определены морфологические особенности плаценты, являющейся одним из самых уникальных гистогематических барьеров и основным звеном реализации внутриутробного инфекционного процесса.

Ключевые слова: внутриутробные инфекции, плацента, фетоплацентарный комплекс, вирусная диарея крупного рогатого скота, хламидиоз, неоспороз, морфологические изменения

Благодарности: Исследования проведены при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках государственного задания по теме № 0532-2021-0007.

Для цитирования: Соколова О. В., Дроздова Л. И., Шкуратова И. А. Морфологические особенности плаценты крупного рогатого скота при вирусных, бактериальных и протозойных инфекциях. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 121–128. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-121-128.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Соколова Ольга Васильевна, доктор ветеринарных наук, старший научный сотрудник ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, 620142, Россия, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а, e-mail: nauka_sokolova@mail.ru.

Morphological features of bovine placenta in case of viral, bacterial and protozoal infections

O. V. Sokolova¹, L. I. Drozdova², I. A. Shkuratova³

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

¹ <http://orcid.org/0000-0002-1169-4090>, e-mail: nauka_sokolova@mail.ru

² <http://orcid.org/0000-0001-9689-1781>, e-mail: drozdova43@mail.ru³ <http://orcid.org/0000-0003-0025-3545>, e-mail: info@urnivi.ru

SUMMARY

The problem of the intrauterine infection of fetus is one of the most critical ones in veterinary obstetrics and in perinatology due to the high level of infection in pregnant cows, the risk of developmental disorder of fetus and the birth of sick calves. Complications of pregnancy occur in case of viral, bacterial and protozoal infections, when the pathogen enters the uterus in an ascending or descending way with further transplacental infection of the fetus. Morphological studies of placenta of Black Pied cattle infected with bovine viral diarrhea, chlamydia and neosporosis were carried out. The presence of the pathogen was confirmed by serological and molecular genetic methods. The material used for histological studies was the fetal part of placenta. After sampling, the material was fixed in a 10% neutral formalin solution, then xylene-free method for histological preparation was used. Afterwards, samples were embedded in paraffin. In order to study morphological structures, samples were sectioned at 5–6 µm, and stained with hematoxylin and eosin. Histological sections were analyzed using a Leica DM 1000 light microscope at a magnification of 100×, 200×, 400×, 630×. On the basis of the conducted studies, it was established that bovine viral diarrhea-associated morphofunctional changes in the “mother – placenta – fetus” system are characterized by involutive-dystrophic changes with microcirculation disorders and the development of an immunity-associated inflammatory process. *Chlamydia abortus* intrauterine infection in the “mother – placenta – fetus” system in cows causes a complex of destructive morphological and functional changes of an infectious and toxic nature with a pronounced inflammatory reaction, involvement of blood vessels in the pathological process, and endothelial dysfunction development, alongside with tissue necrosis in case of a chronic process. The presence of cellular structures in the placenta and the inner part of the umbilical cord is a pathognomonic sign of chlamydia. The role of transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle was confirmed, the *Neospora* parasites subjected to basophilic staining were detected not only in the tissues of the placenta, but also in histological sections of the fetus heart and liver. The main characteristic diagnostic sign is the presence of basophilic stained *Neospora* parasites in the organs of the mother and fetus, placenta, and intervillous space. As part of the study morphological features of placenta, one of the most unique histohematic barriers and the basic element of the intrauterine infectious process, were determined.

Keywords: intrauterine infection, placenta, fetoplacental complex, bovine viral diarrhea, chlamydiosis, neosporosis, morphological changes

Acknowledgements: The reported study was funded by Ministry of Science and Higher Education, project No. 0532-2021-0007.

For citation: Sokolova O. V., Drozdova L. I., Shkuratova I. A. Morphological features of bovine placenta in case of viral, bacterial and protozoal infections. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 121–128. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-121-128.

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

For correspondence: Olga V. Sokolova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, 620142, Russia, Yekaterinburg, ul. Belinskogo, 112a, e-mail: nauka_sokolova@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема внутриутробного инфицирования и внутриутробной инфекции (ВУИ) плода является одной из ведущих в акушерской практике и в перинатологии в связи с высоким уровнем инфицирования беременных коров, опасностью нарушения развития плода и рождения больного телят [1–3]. Большая часть инфекционных заболеваний, вызывающих внутриутробную инфекцию, протекает в субклинической или латентной форме. Однако в результате изменений параметров гомеостаза под влиянием стресса и неблагоприятных факторов внешней среды нарушаются взаимодействия в системе «мать – плацента – плод», что обуславливает манифестацию заболевания [4]. Согласно современным представлениям, совокупность неблагоприятных внешних воздействий способствует нарушению регуляции метаболических и иммунологических процессов в системе «мать – плацента – плод», что приводит к срыву гестационной адаптации, формированию патоморфологических изменений фетоплацентарного комплекса, развитию полиорганной патологии и задержке внутриутробного развития плода или его отторжению как трансплантата [5–9].

На сегодняшний день во всем мире первое и второе место по уровню репродуктивных потерь крупного ро-

гатого скота и причиняемому экономическому ущербу животноводству отводится простейшим *Neospora caninum* и возбудителю вирусной диареи крупного рогатого скота [10–17].

Особую роль при внутриутробном инфицировании плода играют инфекции с хроническим латентным течением в условиях индуцированной патогеном иммуносупрессии. Так, например, возбудители различных инфекций могут длительное время находиться в равновесии в системе «патоген – хозяин» с немедленной манифестацией клинических признаков заболевания в условиях ослабления иммунитета, в том числе под воздействием стресс-факторов различного характера.

Осложнения беременности возникают при вирусных или бактериальных инфекциях, а также внутриутробных протозоозах, когда возбудитель проникает в матку восходящим или нисходящим путем с дальнейшим трансплацентарным инфицированием плода. К таким заболеваниям относятся: группа острых респираторных вирусных инфекций (инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея крупного рогатого скота), хламидиоз и неоспороз крупного рогатого скота. Как правило, инфекционный процесс затрагивает плаценту, в которой развивается комплекс дегенеративно-воспалительных изменений. Для раскрытия патогенетических механиз-

мов внутриутробного инфицирования плода необходимо изучение комплекса патоморфологических изменений по компонентам «мать», «плацента» и «плод» при разных инфекантах, что позволит сформировать научно обоснованный подход к разработке системы контроля и биологической защиты животных от возбудителей abortогенных инфекций.

В связи с вышеизложенным целью исследования явилось изучение комплекса морфологических изменений в плаценте коров при вирусных (вирусная диарея крупного рогатого скота), бактериальных (хламидиоз) и протозойных (неоспороз) заболеваниях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены в отделе репродуктивных технологий ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН и в сельскохозяйственных организациях Уральского региона.

Объектом исследования служила плацента коров черно-пестрой породы, инфицированных возбудителями вирусной диареи крупного рогатого скота, хламидиоза и неоспороза. Наличие возбудителя подтверждали серологическими и молекулярно-генетическими методами. Определение антигенов вируса вирусной диареи крупного рогатого скота проводили с использованием набора Bovine Viral Diarrhoea Virus (BVDV) Antigen Test Kit/Serum Plus (IDEXX Laboratories, Inc, США), определение антител к *Chlamydia abortus* – с помощью набора Chlamydiosis Total Ab Test (IDEXX Laboratories, Inc, США), определение антител к *N. caninum* – с использованием набора Neospora X2 Ab Test (IDEXX Laboratories, Inc, США). Оценку результатов иммуноферментного анализа выполняли на ридере SUNRISE (Tecan, Австрия).

Выделение ДНК возбудителя из биологического материала и постановку полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили в соответствии с инструкциями производителя по применению тест-систем. Использовали набор реагентов для выделения ДНК Diatest™ DNA Prep 200 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия), набор для определения типа видоспецифичного хламидиоза крупного рогатого скота GenPak® DNA PCR test для амплификации ДНК *Chlamydia pecorum*, *Chlamydia abortus*, *Bovine herpes virus/type 1* (ООО «Лаборатория Изоген», Россия), наборы для определения вируса диареи крупного рогатого скота (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия). Для проведения амплификации использовали термоциклер Applied Biosystems 2720 (Сингапур). Исследования осуществляли в электрофорезном варианте с применением агарозного геля и мини-камеры Mini-Sub Cell GT (Bio-Rad Laboratories, Inc., США) с визуализацией под ультрафиолетовым излучением в камере CHEMIDOC XRS+ с интерпретацией результатов с помощью гель-документации Gel Doc XR+ (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Исследования по определению ДНК возбудителя вирусной диареи крупного рогатого скота проводили методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени с применением амплификатора Rotor-Gene 3000 (Corbett Life Science, Австралия).

Материалом для гистологических исследований служили плодная часть плаценты на 5–6-м месяце гестации (оценивали состояние стромы, ворсинчатого хориона, межворсинчатого пространства, сосудистого компонента), пупочный канатик. Материал после отбора фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, затем использовали метод проводки эти-

ловый спирт – ксилол с последующим заключением в парафин. Для изучения морфологических структур изготовленные срезы толщиной 5–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Анализ гистологических срезов проводили на световом микроскопе Leica DM 1000 (Германия) при увеличении 100х, 200х, 400х, 630х.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение взаимосвязи местных и общих патоморфологических изменений при инфекционных болезнях является одним из основных условий раскрытия патогенетических механизмов возникновения и развития инфекции, особенностей взаимодействия макро- и микроорганизма, иммунологической реактивности организма и течения компенсаторно-приспособительных процессов. Морфологическая оценка функциональной системы «мать – плацента – плод» представляет особый интерес при инфицировании возбудителями abortогенных инфекций и инвазий, способными проходить через плацентарный барьер. В наших исследованиях к таким патогенам относятся возбудители вирусной диареи крупного рогатого скота, хламидиоза и неоспороза. В условиях, когда происходит заражение материнского организма, повышается вероятность инфицирования других компонентов системы, в том числе и плода. При этом наиболее подвержены нарушению процессов морфогенеза и развитию такой предрасположенности органы репродуктивной системы животных, а также плацента. Изучение морфофункциональных изменений может помочь в выявлении особенностей взаимодействия возбудителей инфекции с иммунной системой хозяина и определить ее роль в патогенезе заболевания. В дальнейшем это должно стать основой разработки методов диагностики и предупреждения развития внутриутробной инфекции.

Патоморфологические изменения в плаценте при вирусной диарее крупного рогатого скота. При гистологическом исследовании срезов фетальной части плаценты обнаружены инволютивно-дистрофические изменения с циркуляторными нарушениями. В ворсинчатом хорионе установлен ярко выраженный отек стромы ворсин, имеющий диффузный характер (рис. 1). При этом отек наблюдается как в самом синцитиотрофобласте, так и периваскулярно. Наличие лимфоидно-клеточной инфильтрации свидетельствует о развитии воспалительного процесса, в том числе на иммунной основе. Сама строма ворсин оголена, эпителиальная выстилка ворсин хориона нарушена, а в отдельных участках плаценты имеют место очаги отложения фибриноида в межворсинчатом пространстве и солей извести в обескровленных участках, свидетельствующих о петрификации тканей в состоянии ишемии (рис. 2). На нарушения циркуляции указывают такие характерные изменения, как обескровленное микроциркуляторное русло ворсин хориона наряду с тромбозом сосудов (рис. 3). Характерны изменения, связанные с разрушением сосудистой стенки и нарушениями проницаемости клеточных мембран. Наблюдается сладжирование эритроцитов в мелких кровеносных сосудах, а также внутрисосудистый гемолиз эритроцитов (рис. 4). При этом регистрируется отложение пигмента гемосидерина как внутри самих сосудов, так и периваскулярно (рис. 5). Накопление ионов трехвалентного железа в местах патологического скопления

гемосидерина, обладающих высокой каталитической активностью, может оказывать непосредственное повреждающее воздействие на стенки сосудов, усугубляя развитие патологического процесса (рис. 6). Включение в компенсаторный процесс реперфузии на фоне

гипоксических нарушений способствует активизации процессов перекисного окисления липидов и образования активных радикалов, что имеет значение в общей картине генеза развивающейся плацентарной дисфункции.

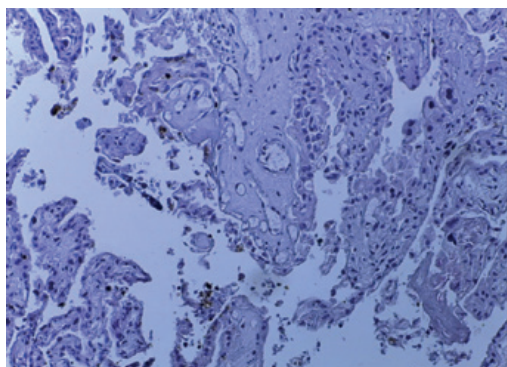


Рис. 1. Плацента. Отек стромы ворсин хориона при вирусной диарее (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х)

Fig. 1. Placenta. Viral diarrhea-associated edema of villous stroma (hematoxylin – eosin, magnification 200х)

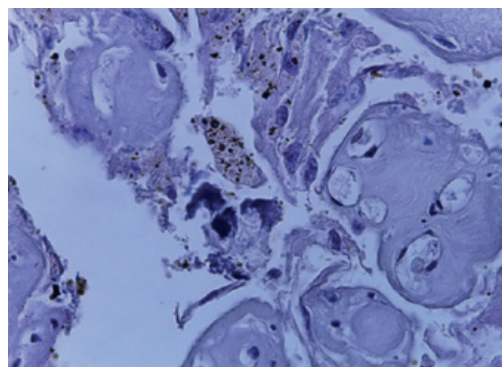


Рис. 2. Плацента. Отложение солей извести при вирусной диарее (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 630х)

Fig. 2. Placenta. Viral diarrhea-associated lime salt deposition (hematoxylin – eosin, magnification 630х)

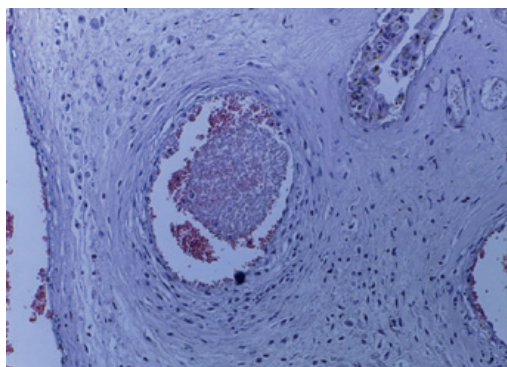


Рис. 3. Плацента. Формирование тромба в сосуде при вирусной диарее (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х)

Fig. 3. Placenta. Viral diarrhea-associated thrombus formation in a vessel (hematoxylin – eosin, magnification 200х)

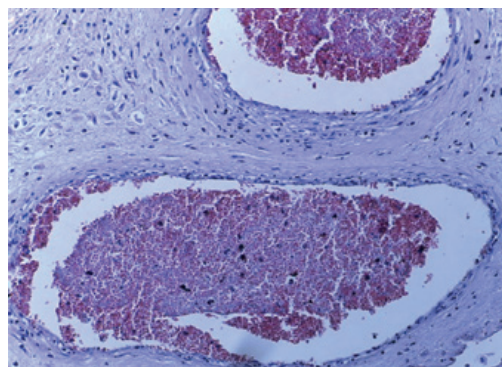


Рис. 4. Плацента. Гемолиз эритроцитов в сосудах при вирусной диарее (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х)

Fig. 4. Placenta. Viral diarrhea-associated hemolysis (hematoxylin – eosin, magnification 400х)

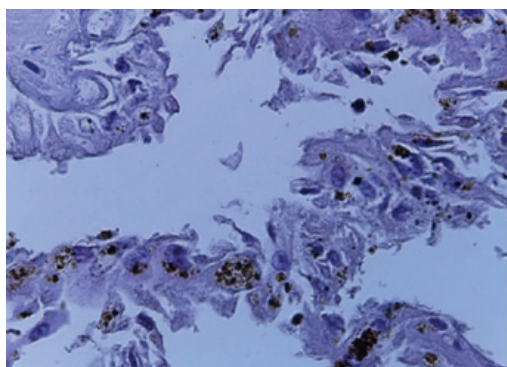


Рис. 5. Плацента. Отложение гемосидерина при вирусной диарее (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х)

Fig. 5. Placenta. Viral diarrhea-associated deposition of hemosiderin (hematoxylin – eosin, magnification 400х)

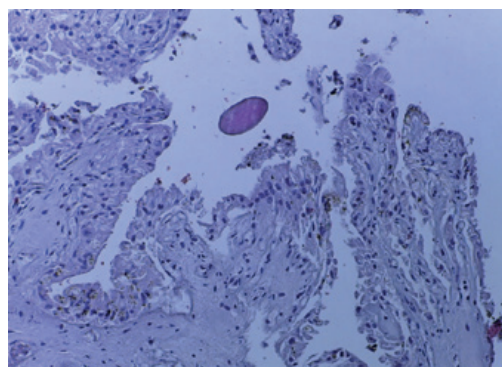


Рис. 6. Плацента. Отложение фибриноида при вирусной диарее (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 200х)

Fig. 6. Placenta. Viral diarrhea-associated fibrinoid deposition (hematoxylin – eosin, magnification 200х)

Патоморфологические изменения в плаценте при хламидиозе. При морфологическом исследовании плодной части плаценты от серопозитивных к *Chl. abortus* коров было выявлено наличие сетчатой структуры, то есть оголение стромы. Также установле-

но оголение стромы ворсин с десквамацией синцитиального эпителия (рис. 7). Синцитий ворсин участвует в прямом контакте со стромой слизистой оболочки матки, обеспечивает трофическую, транспортную, газообменную функцию, а также вырабатывает ряд

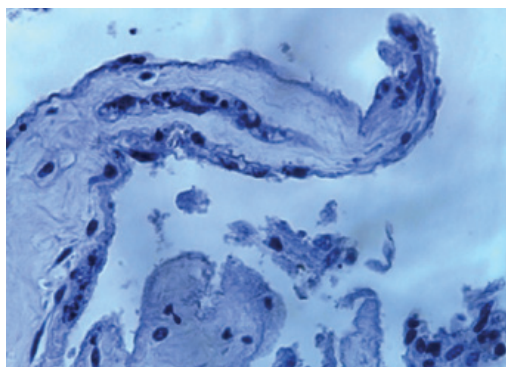


Рис. 7. Ворсина хориона. Оголение ворсины при хламидиозе КРС (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 630×)

Fig. 7. Chorionic villi. Villus denudation in case of chlamydial infection in cattle (hematoxylin – eosin, magnification 630×)

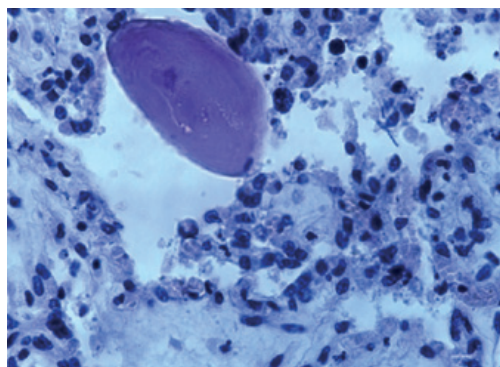


Рис. 8. Хорион. Межворсинчатое пространство при хламидиозе КРС. Сгустки фибриноида (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 630×)

Fig. 8. Chorion. Intervillous space in case of bovine chlamydiosis. Fibrinoid clots (hematoxylin – eosin, magnification 630×)

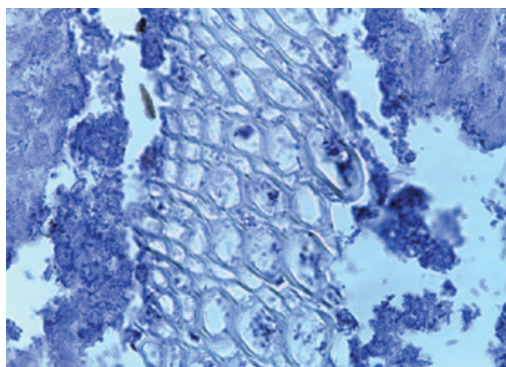


Рис. 9. Ворсинчатый хорион. Ячеистые структуры, характерные для хламидиоза (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 630×)

Fig. 9. Villous chorion. Cellular structures characteristic of chlamydia infection (hematoxylin – eosin, magnification 630×)

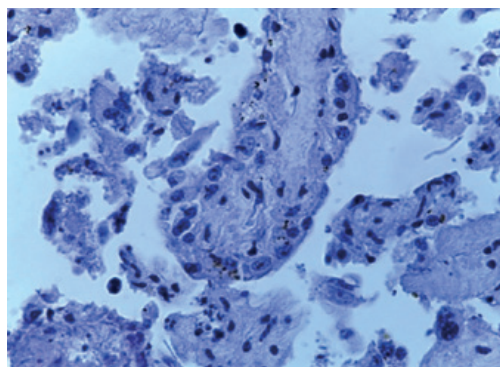


Рис. 10. Хорион. Очаговый некроз с отложением солей извести при хламидиозе КРС (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 630×)

Fig. 10. Chorion. Bovine chlamydiosis-associated focal necrosis characterised by lime salt deposition. Fibrinoid clots (hematoxylin – eosin, magnification 630×)

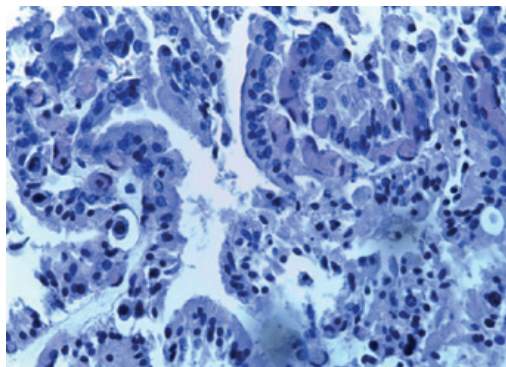


Рис. 11. Плодная часть плаценты. Тромбоз капиллярной сети при хламидиозе КРС (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400×)

Fig. 11. The fetal part of the placenta. Thrombosis of the capillary network in case of bovine chlamydiosis (hematoxylin – eosin, magnification 400×)

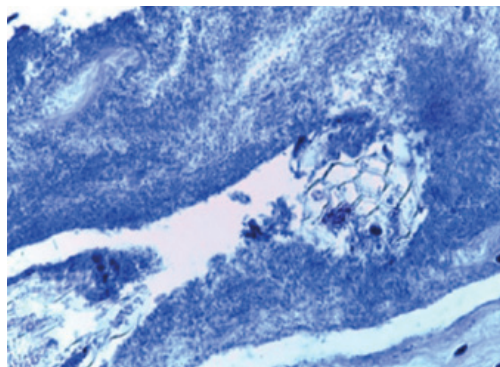


Рис. 12. Пупочный канатик. Ячеистые структуры, характерные для хламидиоза (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 630×)

Fig. 12. Umbilical cord. Cellular structures characteristic of chlamydia infection (hematoxylin – eosin, magnification 630×)

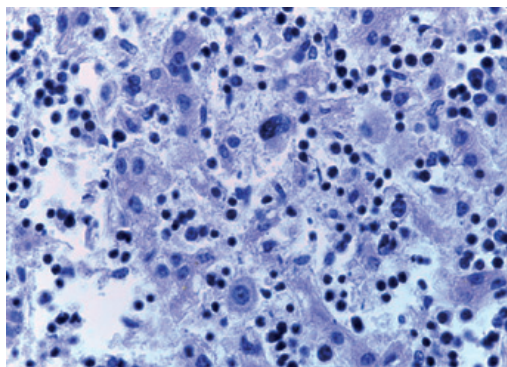


Рис. 13. Плацента. Разрыхление стромы ворсин. Неоспоры (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х)

Fig. 13. Placenta. Loose villous stroma. Neospora (hematoxylin – eosin, magnification 400х)

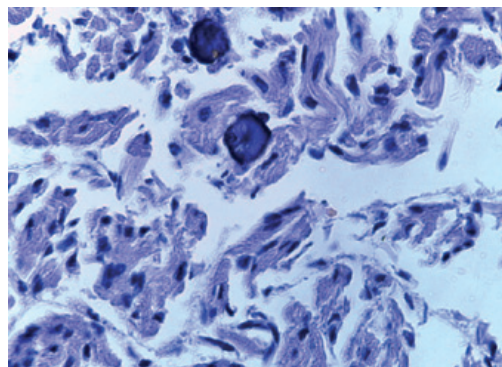


Рис. 14. Плацента. Эпителиальный слой. Неоспоры (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х)

Fig. 14. Placenta. Epithelial layer. Neospora (hematoxylin – eosin, magnification 400х)

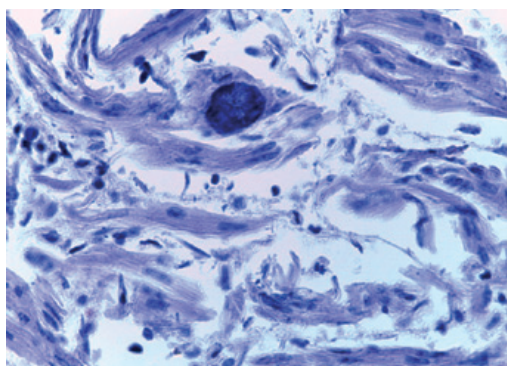


Рис. 15. Плацента. Межворсинчатое пространство. Неоспора (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х)

Fig. 15. Placenta. Intervillous space. Neospora (hematoxylin – eosin, magnification 400х)

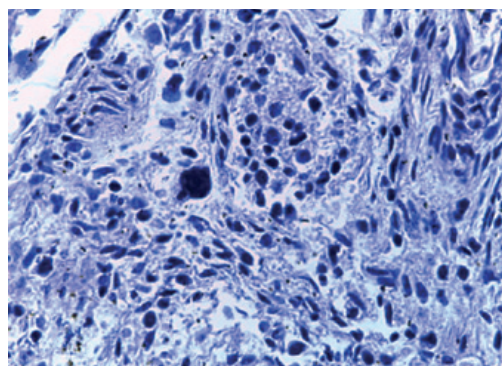


Рис. 16. Плодная часть плаценты. Эпителиальный слой. Неоспора (окраска гематоксилином и эозином, увеличение 400х)

Fig. 16. Fetal part of the placenta. Epithelial layer. Neospora (hematoxylin – eosin, magnification 400х)

биологически активных веществ и витаминов. Таким образом, повреждение синцития наносит прямой ущерб развитию плода. В межворсинчатом пространстве хориона выявлены распространенные формирования сгустков фибриноида (рис. 8). В ворсинчатом хорионе постоянно встречались ячеистые структуры с наличием базофильной крошковатой субстанции, характерной для хламидиоза (рис. 9). Данные ячеистые структуры образуются из клеток хозяина после выхода элементарных телец в результате прохождения цикла развития возбудителя. Наличие таких структур является патогномоничным симптомом при хламидиозе. Аналогичные изменения были описаны В. В. Кочетовым и соавт. [18]. При длительном хроническом течении инфекционного процесса выявлены очаговые и обширные некротические изменения тканей плаценты, характеризующиеся отторжением ворсин хориона с единичными и множественными скоплениями солей извести, свидетельствующими о петрификации некротизированных участков (рис. 10), очаговыми воспалительными полиморфноклеточными инфильтратами и разрушением эпителия. При нарушении компенсаторно-приспособительных реакций в ответ на инфицирование наблюдали гнойно-некротический распад плаценты.

Для изучения патоморфологических особенностей развития воспалительной реакции при хламидиозе проведена оценка микроциркуляторного русла. При исследовании плодной части плаценты инфицированных коров наблюдали неравномерное наполнение сосудов стромы. Кровеносные сосуды большей частью были запустевшими или содержали единичные эритроциты. В некоторых участках хориона установили гиперемия сосудов с диapedезом эритроцитов вследствие нарушения проницаемости сосудистой стенки. У отдельных животных установлено нарушение гемодинамики в виде тромбоза капиллярной сети ворсин (рис. 11). В сосудистой сети плодной части плаценты был выражен распад эритроцитов, обнаружены лейкоциты, макрофаги и клетки десквамированного эндотелия в сосудах разного калибра, что свидетельствует о бактериальном инфицировании плаценты и развитии эндотелиальной дисфункции. Отмечается периваскулярно выраженная полиморфноклеточная инфильтрация и наличие элементов белой крови в просвете сосудов, что связано с развитием классической воспалительной реакции в тканях плаценты.

При гистологическом исследовании ткани пупочного канатика также выявлены массовые крошковатые, базофильно окрашенные массы с наличием ячеистых

структур на внутренней его части, что характерно для хламидиоза (рис. 12).

Таким образом, проведенные исследования убедительно показали, что при хламидиозе крупного рогатого скота поражаются все три компонента системы «мать – плацента – плод».

Патоморфологические изменения в плаценте при неоспорозе. Развитие плаценты у коров, серопозитивных к *N. caninum*, соответствовало срокам гестации 150–180 дней. В плодной части плаценты ворсины хориона были сохранены, что указывает на отсутствие хронического воспалительного процесса. Имели место резко переполненные сосуды всех калибров: от капилляров до крупных кровеносных сосудов, и некоторое разрушение поверхностного эпителия, соединяющего плодную и материнскую части плаценты, что характерно для внезапного спонтанного аборта [19]. В плаценте коров при неоспорозе наблюдали разрыхление соединительной ткани стромы ворсин (рис. 13). Эпителиальный слой хориона утолщен и разрыхлен. В нем обнаружены базофильно окрашенные неоспоры округлой формы разной плотности (рис. 14). Некоторые из них были в состоянии некробактериоза. Такие же неоспоры встречались и в межворсинчатом пространстве (рис. 15). В эпителиальном слое плодной части плаценты и межворсинчатом пространстве также обнаруживали базофильно окрашенные саркоспоридии (рис. 16), что характерно для неоспороза. В плаценте наблюдали признаки, характерные для возникновения спонтанного аборта, не обусловленного развитием хронического воспалительного процесса. Наличие неоспор выявлено также во внутренних органах плода, таких как сердце и печень. При этом морфологических признаков повреждения внутренних органов у абортированных плодов не отмечали. Это, вероятно, связано с достаточно развитой иммунной системой плодов, гестационный возраст которых в представленных исследованиях составил 150–180 дней, способной компетентно отвечать на воздействие паразитов и ограничивать их рост.

Таким образом, причина абортов коров при неоспорозе была связана не с развитием воспалительного процесса как такового, а, вероятнее, с иммунным ответом со стороны матери на инвазирование фетоплацентарного комплекса и/или выбросом простагландинов, спровоцированного инвазией *N. caninum*, что привело к прерыванию беременности. В целом можно резюмировать, что при беременности, ассоциированной с *N. caninum*, высокий уровень абортов может быть обусловлен воздействием нескольких факторов. Реактивация латентной инфекции у серопозитивных животных обусловлена подавлением клеточно-опосредованного иммунитета в середине беременности. В отличие от хламидиоза, при неоспорозе патологические поражения плаценты не так выражены, в связи с чем сложно назвать данные изменения основной причиной абортов. Вероятнее всего, локализуясь в тканях плаценты, неоспоры запускают каскад реакций, связанных с высвобождением простагландинов, вызывающих сокращения матки, и провоспалительных цитокинов, стимулирующих синтез матричных металлопротеиназ в трофобласте, что ведет к разрушению межклеточных взаимосвязей и, как следствие, отторжению фетоплацентарного комплекса. Кроме того, инвазированный плод на фоне общей повышенной сенсibilизации

организма также может индуцировать процесс отторжения материнским организмом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований установлено, что морфофункциональные изменения в системе «мать – плацента – плод» при вирусной диарее крупного рогатого скота характеризуются инволютивно-дистрофическими изменениями с нарушениями микроциркуляции и развитием воспалительного процесса на иммунной основе.

При внутриутробном инфицировании *Chl. abortus* в системе «мать – плацента – плод» у коров наблюдается комплекс деструктивных морфологических и функциональных изменений инфекционно-токсического характера с выраженной воспалительной реакцией, вовлечением в патологический процесс кровеносных сосудов и развитием эндотелиальной дисфункции с некротизацией тканей при хронизации процесса. Наличие ячеистых структур в плаценте и внутренней части пупочного канатика является патогномоничным признаком хламидиоза.

Подтверждена роль трансплацентарной передачи *N. caninum* у крупного рогатого скота, базофильно окрашенные неоспоры выявлены не только в тканях плаценты, но и в гистологических срезах сердца и печени плодов. Морфофункциональные изменения в системе «мать – плацента – плод» у коров при инвазии *N. caninum* характеризуются признаками нарушения микроциркуляции и гемодинамики, развитием сенсibilизации. Характерным диагностическим признаком является наличие базофильно окрашенных неоспор в органах матери и плода, плаценте и межворсинчатом пространстве. Прерывание беременности при неоспорозе, на наш взгляд, связано не с развитием воспалительного процесса как такового, а, вероятнее, с иммунным ответом со стороны матери на инвазирование фетоплацентарного комплекса, что согласуется с предположениями ряда зарубежных авторов [4, 17].

Проведенные исследования позволили установить морфологические особенности плаценты, являющейся одним из самых уникальных гистогематических барьеров и основным звеном реализации внутриутробного инфекционного процесса, что объясняет пристальное внимание исследователей к данному провизорному органу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алехин Ю. Н., Жуков М. С., Лебедева А. Ю. Ветеринарно-технологические аспекты современного мясного скотоводства. *Эффективное животноводство*. 2018; 7: 34–37. eLIBRARY ID: 36815454.
- Нежданов А. Г., Михалев В. И., Чусова Г. Г., Папин Н. Е., Черницкий А. Е., Лозовая Е. Г. Метаболический статус коров при задержке внутриутробного развития эмбриона и плода. *Сельскохозяйственная биология*. 2016; 51 (2): 230–237. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.2.230rus.
- Ряпосова М. В., Заузолкова О. И., Сивкова У. В. Гинекологическая патология у коров в племенных заводах Свердловской области. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. 2015; 2: 241–242. eLIBRARY ID: 23603302.
- Oguejiofor C. F., Thomas C., Cheng Z., Wathes D. C. Mechanisms linking bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection with infertility in cattle. *Anim. Health Res. Rev.* 2019; 20 (1): 72–85. DOI: 10.1017/S1466252319000057.
- Колчина А. Ф. Болезни беременных и перинатальная патология у животных. Екатеринбург: УрГХА; 1999. 114 с.
- Шабунина-Басок Н. Р. Морфофункциональные изменения в системе «мать – плацента – плод» при беременности, ассоциированной с вирусными и вирусно-бактериальными инфекциями: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Челябинск; 2005. 47 с. Режим доступа: <https://viewer.rusneb.ru/ru/rl01002973390?page=1&rotate=0&theme=white>.

7. Квочко А. Н., Криворучко А. Ю. Влияние сыворотки плода на синтез ДНК в трофобласте в условиях гипоксии. *Морфологические ведомости*. 2007; 15 (1–2): 65–67. eLIBRARY ID: 14673289.
8. Дроздова Л. И. Патоморфология плацентарного барьера животных: монография. Екатеринбург: УрГКСА; 2011. 245 с.
9. Нежданов А. Г., Михалев В. И., Лозовая Е. Г., Лободин К. А., Сафонов В. А. Патфизиологические аспекты эмбриональной смертности у молочных коров. *Сельскохозяйственная биология*. 2017; 52 (2): 338–348. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.2.338rus.
10. Глотов А. Г., Глотова Т. И., Зайцев Ю. Н., Пьянков О. В., Сергеев А. Н., Гулюкин М. И. Патогенность нецитопатогенных изолятов вируса вирусной диареи – болезни слизистых оболочек для серонегативных телят. *Вопросы вирусологии*. 2014; 59 (4): 46–49. eLIBRARY ID: 22474255.
11. Глотов А. Г., Глотова Т. И. Вирусная диарея: значение в патологии воспроизводства крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2015; 4: 3–8. eLIBRARY ID: 23235383.
12. Глотов А. Г., Глотова Т. И. Атипичные пестивирuses крупного рогатого скота (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2015; 50 (4): 399–408. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.4.399rus.
13. Петрова О. Г., Рубинский И. А., Кушнир Н. И., Салтыкова В. А. Прогнозирование развития внутриутробной инфекции у коров в сельскохозяйственных организациях Свердловской области. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2009; 1: 118–120. eLIBRARY ID: 11792471.
14. Шабунин С. В., Шахов А. Г., Нежданов А. Г. Бактериальные и вирусные инфекции в патологии воспроизводительной функции коров. *Ветеринария*. 2012; 10: 3–8. eLIBRARY ID: 17995956.
15. Шилова Е. Н., Шкуратова И. А., Ряпосова М. В., Вялых И. В., Козлова Н. А. Эффективность специфических методов диагностики хламидиоза крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2014; 4: 21–24. eLIBRARY ID: 21375996.
16. Шилова Е. Н., Ряпосова М. В., Шкуратова И. А., Вялых И. В. Вирусная диарея – болезнь слизистых оболочек крупного рогатого скота в Уральском регионе. *Ветеринария*. 2014; 5: 19–21. eLIBRARY ID: 21868782.
17. Graham D. A., Beggs N., Mawhinney K., Calvert V., Cunningham B., Rowan-Layberry L., McLaren I. Comparative evaluation of diagnostic techniques for bovine viral diarrhoea virus in aborted and stillborn fetuses. *Vet. Rec.* 2009; 164 (2): 56–58. DOI: 10.1136/vr.164.2.56.
18. Кочетов В. В., Татарникова Н. А., Кочетова О. В. Морфофункциональные изменения в тканях последа при хламидийной инфекции у крупного рогатого скота. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2015; 221 (1): 121–124. eLIBRARY ID: 23221217.
19. Соколова О. В., Дроздова Л. И., Ряпосова М. В., Шилова Е. Н., Шкуратова И. А. Клинико-морфологические и биохимические изменения у коров при неоспорозе. *Ветеринария*. 2020; 7: 32–37. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.7.32-37.
20. Oguejiofor C. F., Thomas C., Cheng Z., Wathes D. C. Mechanisms linking bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection with infertility in cattle. *Anim. Health Res. Rev.* 2019; 20 (1): 72–85. DOI: 10.1017/S1466252319000057.
21. Kolchina A. F. Diseases of pregnant animals and perinatal pathology. Ekaterinburg: Ural State Agricultural Academy; 1999. 114 p. (in Russ.)
22. Shabunina-Basok N. R. Morphofunctional changes in the mother – placenta – fetus system during pregnancy associated with viral and viral-bacterial infections: author's abstract of Doctor of Medical Sciences thesis. Chelyabinsk; 2005. 47 p. Available at: <https://viewer.rusneb.ru/ru/rsl01002973390?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
23. Kvochko A. N., Krivoruchko A. J. Influence of fetal serum on production of DNA in trophoblast under hypoxic condition. *Morphological newsletter*. 2007; 15 (1–2): 65–67. eLIBRARY ID: 14673289. (in Russ.)
24. Drozdova L. I. Pathomorphology of the placental barrier of animals: monograph. Ekaterinburg: Ural State Agricultural Academy; 2010. 245 p. (in Russ.)
25. Nezhdanov A. G., Mikhalev V. I., Lozovaya E. G., Lobodin K. A., Safonov V. A. Athophysiological aspects of embryonic mortality in dairy cows. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2017; 52 (2): 338–348. DOI: 10.15389/agrobiology.2017.2.338eng.
26. Glotov A. G., Glotova T. I., Zaitsev Yu. N., Pyankov O. V., Sergeev A. N., Gulyukin M. I. Pathogenicity of noncytopathic isolates of bovine viral diarrhoea virus in experimentally infected seronegative calves. *Problems of Virology*. 2014; 59 (4): 46–49. eLIBRARY ID: 22474255. (in Russ.)
27. Glotov A. G., Glotova T. I. Impact of bovine viral diarrhoea virus to fertility in cattle. *Veterinariya*. 2015; 4: 3–8. eLIBRARY ID: 23235383. (in Russ.)
28. Glotov A. G., Glotova T. I. Atypical bovine pestiviruses (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2015; 50 (4): 399–408. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.4.399eng.
29. Petrova O. G., Rubinsky I. A., Kushnir N. I., Saltykova V. A. Prognozirovanie razvitiya vnutriutrobnoi infektsii u korov v sel'skokhozyaistvennykh organizatsiyakh Sverdlovskoi oblasti = Predicting the development of intrauterine infection in cows in agricultural organizations of the Sverdlovsk Region. *Agricultural Science Euro-North-East*. 2009; 1: 118–120. eLIBRARY ID: 11792471. (in Russ.)
30. Shabunin S. V., Shakhov A. G., Nezhdanov A. G. Bacterial and viral infections in pathology of the cows: reproductive function. *Veterinariya*. 2012; 10: 3–8. eLIBRARY ID: 17995956. (in Russ.)
31. Shilova E. N., Shkuratova I. A., Riaposova M. V., Vyalyh I. V., Kozlova N. A. Effectiveness specific methods of diagnostic chlamydia in cattle. *Veterinariya*. 2014; 4: 21–24. eLIBRARY ID: 21375996. (in Russ.)
32. Shilova E. N., Riaposova M. V., Shkuratova I. A., Vyalyh I. V. Bovine viral diarrhoea in the Ural Region. *Veterinariya*. 2014; 5: 19–21. eLIBRARY ID: 21868782. (in Russ.)
33. Graham D. A., Beggs N., Mawhinney K., Calvert V., Cunningham B., Rowan-Layberry L., McLaren I. Comparative evaluation of diagnostic techniques for bovine viral diarrhoea virus in aborted and stillborn fetuses. *Vet. Rec.* 2009; 164 (2): 56–58. DOI: 10.1136/vr.164.2.56.
34. Kochetov V. V., Tatarnikova N. A., Kochetova O. V. Morphological and functional changes in the tissues of placenta with chlamydia infection of cattle. *Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2015; 221 (1): 121–124. eLIBRARY ID: 23221217. (in Russ.)
35. Sokolova O. V., Drozdova L. I., Ryaposova M. V., Shilova E. N., Shkuratova I. A. Clinical, morphological and biochemical changes in cows upon invasion of *Neospora caninum*. *Veterinariya*. 2020; 7: 32–37. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.7.32-37. (in Russ.)

REFERENCES

1. Alekhin Yu. N., Zhukov M. S., Lebedeva A. Yu. Veterinarno-tekhnologicheskie aspekty sovremennogo myasnogo skotovodstva = Veterinary and technological aspects of modern beef cattle breeding. *Effectivnoe zhiivotnovodstvo*. 2018; 7: 34–37. eLIBRARY ID: 36815454. (in Russ.)
2. Nezhdanov A. G., Mikhalev V. I., Chusova G. G., Papin N. E., Chernitskiy A. E., Lozovaya E. G. Metabolic status of the cows under intrauterine growth retardation of embryo and fetus. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2016; 51 (2): 230–237. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.2.230eng.
3. Ryaposova M. V., Zauzolkova O. I., Sivkova W. V. Gynecological pathology in cows in breeding plants of the Sverdlovsk Region. *Issues of Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2015; 2: 241–242. eLIBRARY ID: 23603302. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 14.02.2022
Поступила после рецензирования / Revised 05.03.2022
Принята к публикации / Accepted 11.04.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Соколова Ольга Васильевна, доктор ветеринарных наук, старший научный сотрудник ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Дроздова Людмила Ивановна, доктор ветеринарных наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Шкуратова Ирина Алексеевна, доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия.

Olga V. Sokolova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Yekaterinburg, Russia.

Lyudmila I. Drozdova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Leading Researcher, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Yekaterinburg, Russia.

Irina A. Shkuratova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Chief Researcher, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Yekaterinburg, Russia.



Применение препарата «Кутикулин» для лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний у телят и поросят

М. В. Корюкина¹, В. Н. Макарова², О. Б. Бадеева³, И. Н. Симанова⁴

Вологодский филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» (Вологодский филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), г. Вологда, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-6250-1922>, e-mail: marischka7786@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-1687-5173>, e-mail: veramakarova2015@yandex.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-2708-799X>, e-mail: oksanabadeeva@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-5264-3815>, e-mail: irinasimanowa@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Мировая экономика диктует все более жесткие требования к качеству и объему потребляемой продукции. Специалисты в области ветеринарии вынуждены осуществлять поиск лекарственных средств, которые оказывают щадящее действие на организм животных, но при этом способны устранять причины заболевания. В данной статье представлены результаты испытания изготовленного на базе Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН препарата «Кутикулин», состоящего из кутикулы мышечного желудка кур, содержащей кератоидный секрет и ряд биологически активных ферментов, и представляющего собой нетоксичный и нерастворимый в воде порошок желто-зеленого цвета, горьковатого вкуса, без запаха. При применении с лечебной целью препарата «Кутикулин» новорожденным телятам с легкой формой диспепсии, вызванной различными причинами алиментарного характера, продолжительность болезни составила в среднем 2,9 дня, процент выздоровевших в группах был примерно одинаковым – 96,6–96,9%. У телят старшего возраста лечение препаратом позволило уменьшить длительность лечения почти на сутки, повысить процент выздоровевших на 4,8%, снизить число павших в 1,6 раза. Использование препарата «Кутикулин» с профилактической целью у поросят-отъемышей сократило заболеваемость в первой, третьей и пятой опытных группах по сравнению с контрольными в 2,7; 8,9 и 1,8 раза соответственно. Наиболее высокая профилактическая эффективность установлена у поросят третьей опытной группы, которые получали препарат групповым методом с жидким кормом в дозе 1,0 г один раз в сутки 3 дня подряд. У подопытных животных помимо сокращения периода заболевания отмечали уменьшение степени выраженности клинических симптомов. Таким образом, применение препарата «Кутикулин» снижает заболеваемость и отход телят и поросят при желудочно-кишечных заболеваниях.

Ключевые слова: лечение, профилактика, желудочно-кишечные заболевания, телята, поросята, препарат «Кутикулин»

Для цитирования: Корюкина М. В., Макарова В. Н., Бадеева О. Б., Симанова И. Н. Применение препарата «Кутикулин» для лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний у телят и поросят. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 129–134. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-129-134.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Корюкина Марина Вениаминовна, научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, 160009, Россия, г. Вологда, ул. Чехова, 10, e-mail: marischka7786@mail.ru.

The use of Kutikulin for treatment and prevention of gastrointestinal diseases in calves and piglets

M. V. Koryukina¹, V. N. Makarova², O. B. Badeeva³, I. N. Simanova⁴

Vologda Branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV" (Vologda Branch of the FSC VIEV), Vologda, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-6250-1922>, e-mail: marischka7786@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-1687-5173>, e-mail: veramakarova2015@yandex.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-2708-799X>, e-mail: oksanabadeeva@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-5264-3815>, e-mail: irinasimanowa@gmail.com

SUMMARY

The global economy dictates more and more stringent requirements for the quality and volumes of products consumed. Veterinary professionals have to look for medicinal products that have a sparing effect on the animal body and, at the same time, are capable of eliminating disease causes. The paper presents the results of tests of Kutikulin, a product made at the Vologda Branch of the FSC VIEV, which consists of chicken gizzard cuticle containing a keratoid secretion and a number of biologically active enzymes. It is a non-toxic, water-insoluble, odourless yellow-green powder with a bitterish taste. When Kutikulin was used to treat newborn calves with a mild dyspepsia resulting from various alimentary causes, the disease duration averaged 2.9 days, recovery rates in the groups were approximately

the same (96.6–96.9%). Kutikulin treatment of older calves allowed to reduce the duration of treatment by almost a day, to increase recovery rates by 4.8% and to decrease the number of deaths by 1.6 times. When used for preventive purposes in weaned piglets, Kutikulin helped to decrease morbidity in groups 1, 3 and 5 (test groups) by 2.7, 8.9 and 1.8 times, respectively, as compared with control groups. Its preventive effectiveness was found to be the highest in group 3 (test) piglets that received Kutikulin on a group basis with a liquid feed at a dose of 1.0 g once a day during 3 consecutive days. Along with a shorter disease duration, test group animals also demonstrated less pronounced clinical symptoms. Thus, the use of Kutikulin reduces gastrointestinal disease morbidity and mortality in calves and piglets.

Keywords: treatment, prevention, gastrointestinal diseases, calves, piglets, Kutikulin

For citation: Koryukina M. V., Makarova V. N., Badeeva O. B., Simanova I. N. The use of Kutikulin for treatment and prevention of gastrointestinal diseases in calves and piglets. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 129–134. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-129-134.

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

For correspondence: Marina V. Koryukina, Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, 160009, Russia, Vologda, ul. Chekhova, 10, e-mail: marischka7786@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Среди патологий, регистрируемых в животноводческих хозяйствах Вологодской области, максимальный экономический ущерб наносят болезни желудочно-кишечного тракта, от которых особенно страдают молодые животные. Наиболее сложный период сохранения молодняка – первые 10–15 дней после рождения, особенно в молозивный период. Предрасполагающими причинами возникновения желудочно-кишечных расстройств (диспепсий) является снижение естественной резистентности организма новорожденных телят вследствие неполноценного кормления и ненадлежащих условий содержания коров-матерей. От коров, получающих неполные рационы, рождаются телята с пониженной секреторной и ферментативной функцией пищеварительных желез, с нарушением процесса всасывания продуктов гидролиза в кишечнике. Данные животные, как правило, страдают желудочно-кишечными расстройствами. В этой связи важное практическое значение приобретает применение препаратов, стимулирующих и нормализующих ферментативную и секреторную деятельность пищеварительных желез. Создание надлежащих санитарных условий при проведении отелов в изолированных боксах и дальнейшем содержании молодняка, а также своевременное выпаивание молозива в достаточном количестве в большинстве случаев позволяет не допустить появления болезни. В настоящее время для профилактики и лечения желудочно-кишечных заболеваний молодняка, а также повышения их продуктивности широко используют тканевые препараты [1].

О применении тканевых препаратов было известно еще в первом столетии нашей эры, тогда в качестве основы использовали корни различных растений. Согласно описаниям римских ученых Колумеллы, Аписирта и Вегеция, было успешным подкожное введение корня чемерицы крупному рогатому скоту и свиньям.

В современном мире большое значение имеет качество и экологическая чистота продуктов, потребляемых человеком, отсутствие опасных химических веществ и сбалансированность рационов питания. Важную роль в рационе играют продукты животного происхождения, так как являются полноценным источником белка [2, 3].

Качество сырья складывается из многих факторов, таких как переработка, изготовление, безопасность. Но все же основное внимание надо обратить на каче-

ство продукта, которое изначально зависит от условий содержания, рационов кормления животных и назначаемого лечения, если была такая необходимость. Известно, что неограниченное применение антибиотиков отражается на качестве продукции. Это особенно актуально, так как зачастую в хозяйствах широко используют антибактериальные препараты с целью сократить время лечения и затратить как можно меньше средств. В результате у бактерий, вызывающих то или иное заболевание, развивается резистентность к антибиотикам, и они перестают быть восприимчивыми к действию препаратов в тот момент, когда их применение становится жизненно необходимым. Кроме того, использование дефицитных дорогостоящих антимикробных средств отрицательно сказывается на экономических показателях сельскохозяйственных предприятий. Поэтому целесообразным является замена их препаратами, способствующими улучшению пищеварения и всасыванию питательных веществ в желудочно-кишечном тракте [4, 5].

Широкое применение в ветеринарной практике получили тканевые препараты и лизаты, полученные из различных органов и тканей с помощью гидролиза. В частности, лечение проводят тканевыми препаратами из печени и селезенки крупного рогатого скота, семенников жеребцов и баранов. Применение этих веществ в минимальных количествах, добавляемых в корм или в качестве аппликаций на слизистые оболочки, ускоряет рост и развитие молодых животных, повышает привесы откормочного поголовья. Также увеличиваются показатели естественной резистентности организма (лизоцимная и бактерицидная активность сыворотки крови, фагоцитарная активность лейкоцитов), повышается уровень морфологических и биохимических показателей крови (количество эритроцитов, лейкоцитов, гематокрита, СОЭ, гемоглобина, общего белка) [6, 7].

Тканевая терапия основана на применении консервированных тканей и препаратов из них с лечебной целью и для повышения продуктивности животных. Тканевые препараты содержат белковые компоненты, которые стимулируют отдельные органы и ткани. Эффективность их использования во многом зависит от вида, возраста животного, функционального состояния нервной системы или особенностей заболевания. Применение тканевых препаратов позволяет увеличить привес у животных на 15–30% и способствует увеличению производства мяса [8, 9].

Тканевая терапия в совокупности с полноценным кормлением и оптимальными условиями содержания имеет положительный эффект при любой форме заболевания – повышает физиологические функции организма, что способствует борьбе с патологическими процессами. Осложнения и побочные явления при этом наблюдаются крайне редко [10].

Широкое применение биостимуляторы нашли при лечении акушерско-гинекологической патологии сельскохозяйственных животных: при хронических эндометритах, элементарной дистрофии яичников. Использование тканевых препаратов при инфекционных заболеваниях оказывает общее стимулирующее действие на организм, что имеет практическое значение для повышения факторов специфического иммунитета и лучшей диагностики хронических инфекционных заболеваний [11, 12].

У молодняка, в первую очередь у новорожденных, велика вероятность гибели от обезвоживания из-за несовершенной регуляции водного обмена вследствие функционального недоразвития почек. Поэтому к лечению данных животных следует приступать незамедлительно. Иногда достаточно введения физиологического раствора, настоев и отваров лекарственных трав, сложных электролитических растворов, таких как раствор Рингера-Локка, раствор И. Г. Шарабрина [13, 14].

Важным аспектом является формирование иммунитета у животных в ранний период жизни. Именно в это время необходимо укрепление иммунной системы для увеличения общей сопротивляемости организма к заболеваниям. Следует уделять большое внимание повышению защитных сил организма, его резистентности к условиям окружающей среды и учитывать время от начала лечения до полного выздоровления. Для улучшения этих показателей организму необходимо получать питательные вещества, которых не всегда достаточно в ежедневном потребляемом корме или биодобавках. С этой целью возможно использование препаратов растительного и животного происхождения [15, 16].

Одним из известных тканевых препаратов является препарат по В. П. Филатову. Именно этот ученый в 1933 г. начал изучение биогенных стимуляторов, которые образуются в процессе консервирования тканей животного происхождения при низкой температуре и растительных тканей в условиях темноты. Биогенные стимуляторы являются небелковыми веществами, которые представлены главным образом яблочной, лимонной, молочной, янтарной, карбоновыми кислотами и двумя аминокислотами: аргинином и глютаминовой кислотой.

Как указывают многие авторы, спектр применения биогенных стимуляторов достаточно широк как в ветеринарии, так и в медицине. Ветеринарный врач К. Киселев (1898 г.) использовал вытяжку из семенников жеребцов для лечения больных плеввропневмонией лошадей и добился полного их излечения. Консервированные ткани по В. П. Филатову можно применять как отдельный вид лекарства, так и в сочетании с антибиотиками и витаминами [10, 13, 17].

В Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н. Э. Баумана был проведен опыт по изучению препарата по В. П. Филатову, который состоит из тканей паренхиматозных органов (печень, селезенка) здоровых сельскохозяйственных животных с добавлением микроэлементов. В опыт были взяты

12 телят 3-месячного возраста. Препарат вводили в область средней трети шеи в дозе 10 мл через каждые 7 дней в течение 4 недель. В результате исследований был сделан вывод о повышении функциональной активности иммунной системы, увеличении содержания общего белка на 6,7%, фосфора – на 3,9%, кальция – на 3,4%, альбуминов – на 5,4%, α -глобулинов – на 7,1%, β -глобулинов – на 8,3% в крови по сравнению с контрольными животными [18].

На базе Вологодской научно-исследовательской ветеринарной станции, в настоящее время именуемой Вологодский филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, был разработан и запатентован биостимулятор – «Спленивит» – экстракт из селезенки крупного рогатого скота с витамином В12¹. Препарат представляет собой стерильную жидкость темно-коричневого цвета с красноватым оттенком, не обладающую токсическими и анафилактическими свойствами. Определение влияния его на общую резистентность проводили на супоросных свиноматках. Опытной группе (132 гол.) препарат вводили по 5 мл за 30, 20, 10 дней до опороса. Животные контрольной группы (172 гол.) его не получали.

Так, у свиноматок, которым вводили биостимулятор, снизилось рождение мертвых поросят в 2 раза, повысилась сохранность к отъему в 2,8 раза, а выход деловых поросят был больше на 2,2 головы.

После двукратного введения «Спленивита» у поросят 20-суточного возраста наблюдалось достоверное повышение уровня гемоглобина на 14,7%, увеличение содержания эритроцитов на 33,3%, общего белка на 12,3%, γ -глобулинов на 67,3%, повышение фагоцитарной активности и фагоцитарного индекса нейтрофилов соответственно на 13,2 и 16,7%, а содержание лейкоцитов в крови и количество поросят, находящихся в стрессе, уменьшилось на 39,3 и 25,0% по сравнению с контролем ($P > 0,95-0,99$).

После трехкратного введения препарата у поросят 30-суточного возраста наиболее значительные различия были в повышении количества эритроцитов на 37,2%, общего сахара на 13,5%, увеличении фагоцитарной активности нейтрофилов на 79,6% ($P > 0,95-0,99$), а содержание лимфоцитов, лейкоцитов и количество поросят в стрессовом состоянии уменьшилось на 11,3; 51,0; 50,0% ($P > 0,95-0,99$).

При исследовании проб крови телят, которым вводили «Спленивит» с двухсуточного возраста 3 раза с 7-дневным интервалом, отмечали увеличение следующих показателей: гемоглобина на 13,6%, бактерицидной активности сыворотки крови на 36,0%, фагоцитарной активности нейтрофилов на 77,8%, комплемента на 60,0%, моноцитов на 53,0%, а количество палочкоядерных нейтрофилов и содержание сиаловых кислот уменьшилось на 47,5 и 20,3% соответственно.

Доля влияния «Спленивита» в общем комплексе причин, вызывающих изменение уровня гемоглобина, бактерицидной активности сыворотки крови, фагоцитарной активности нейтрофилов, комплемента, сиаловых кислот, палочкоядерных нейтрофилов и моноцитов, составила соответственно 13,6; 13,5; 13,9; 10,0; 14,3; 15,8; 14,9% ($P > 0,95-0,99$).

¹ Горбунов А. П., Масанская В. В. Способ получения биостимулятора «Спленивита» из селезенки животных. А. с. № 1695869 А1 СССР, МПК А23К1/00 (2000-01-01). Вологодская научно-исследовательская станция. № 4753414/15. Заявл. 30.10.1989. Оpubл. 07.12.1991. Бюл. № 45.

Таким образом, заболеваемость и падеж в опытных группах были ниже у телят в 2,2 раза, у поросят соответственно в 2,7 и 4,1 раза по сравнению с контрольными группами. Кроме того, среди поросят количество гипотрофиков к отъему сократилось в 2,5 раза. Следовательно, применение «Спленивита» при болезнях новорожденных телят и поросят повышает защитные силы организма, улучшает рост и развитие, снижает заболеваемость и отход молодняка.

Другой современный пример применения иммуномодуляторов в ветеринарии – опыт по лечению новорожденных телят с функциональной формой диспепсии препаратом «Тимоген», проведенный учеными Белгородской государственной сельскохозяйственной академии. Телятам одной из опытных групп вводили 0,01%-й раствор «Тимогена» в дозе 10 мл внутримышечно в течение 10 сут начиная со 2-го дня после рождения и «Фармазин-50» в дозе 5 мл внутримышечно в течение 4 сут. В результате к 10-м сут было отмечено увеличение в крови телят таких показателей белкового обмена, как α - и β -глобулин, на 52,8%, что свидетельствует о влиянии «Тимогена» на становление иммунной системы, общее физиологическое состояние животных, восстановление нарушенных процессов обмена веществ и его возможной роли в предупреждении развития заболеваний [19].

На кафедре инфекционной и незаразной патологии ФГБОУ ВПО «Уральский государственный аграрный

университет» была проведена работа по испытанию растительно-тканевого препарата в виде настоев лекарственных трав с добавлением стимулятора Дорогова АСД-2Ф. Настой выпаивали телятам один раз в день в течение 7 дней. По результатам исследований данный препарат показал высокую противомикробную активность по отношению к штаммам *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*, выделенных от больных животных. Также было отмечено уменьшение сроков лечения телят при колибактериозе и сальмонеллезе, улучшение гематологических показателей крови [20].

Таким образом, весьма актуальными являются разработка и применение средств животного и растительного происхождения при лечении и профилактике желудочно-кишечных заболеваний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН был изготовлен препарат «Кутикулин», состоящий из кутикулы мышечного желудка кур, содержащей кератинидный секрет и ряд биологически активных ферментов, и представляющий собой нетоксичный и нерастворимый в воде порошок желто-зеленого цвета, горьковатого вкуса, без запаха.

Лечебная эффективность препарата «Кутикулин» испытана при диареях телят разного возраста в животноводческих хозяйствах Вологодской области. Были сформированы две группы из новорожденных телят до 10-суточного возраста: 1-я опытная – 174 гол. и 2-я контрольная – 97 гол.; две группы из телят старшего возраста (до 30-суточного возраста): 3-я опытная – 13 гол. и 4-я контрольная – 8 гол. Лечение животных во всех группах начинали при появлении первых признаков болезни (диареи) по схемам, принятым в хозяйствах. Телята опытных групп получали «Кутикулин» 1 раз в сутки вместо антимикробных препаратов. Препарат задавали по 1,5–2,0 г с какой-либо выпаиваемой жидкостью утром за 20–30 мин до кормления, курс лечения составлял 3–4 дня. Перед дачей порошка количество молозива или молока сокращали наполовину.

Профилактическую эффективность препарата «Кутикулин» изучали на поросятах-отъемышах (1894 гол.) с целью предупреждения желудочно-кишечных расстройств в первые дни после отъема их от свиноматок и адаптации к новому безмолочному типу питания. Препарат задавали групповым методом 1 раз в сутки в течение 3 дней: первой группе в дозе 0,5 г с кашей, второй – 1,0 г с жидким кормом, третьей – 0,5 г с сухим кормом.

Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с Европейской конвенцией ETS № 123.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Новорожденным и телятам более старшего возраста с лечебной целью при легком течении диспепсии, вызванной различными причинами алиментарного характера, применяли препарат «Кутикулин».

Из приведенных в таблице 1 данных видно, что продолжительность болезни у новорожденных телят в обеих группах составила в среднем 2,9 сут, процент выздоровевших был примерно одинаковый – 96,6 и 96,9%. Применение препарата телятам более старшего возраста позволило уменьшить длительность лечения почти на сутки, повысить количество выздоровевших на 4,8%, снизить число павших в 1,6 раза.

Таблица 1
Результаты лечения телят препаратом «Кутикулин»

Table 1
The results of Kutikulin treatment in calves

Группы	Количество животных, гол.	Продолжительность болезни, сут	Эффективность лечения		Пало	
			Выздоровело, гол.	%	гол.	%
Новорожденные телята						
1-я опытная	174	2,9	168	96,6	6	3,4
2-я контрольная	97	2,9	94	96,9	3	3,1
Телята старшего возраста						
3-я опытная	13	4,5	12	92,3	1	7,7
4-я контрольная	8	5,7	7	87,5	1	12,5

Таблица 2
Результаты применения препарата «Кутикулин» с профилактической целью поросатам-отъемышам

Table 2
The results of Kutikulin use for prevention purposes in weaned piglets

Группы	Количество животных, гол.	Доза препарата, г	Заболело		Пало	
			гол.	%	гол.	%
1-я опытная	250	0,5	6	2,4	1	0,4
2-я контрольная	220	–	16	7,3	2	0,9
3-я опытная	130	1,0	7	5,4	–	–
4-я контрольная	138	–	62	44,9	7	5,1
5-я опытная	576	0,5	138	24,0	37	6,4
6-я контрольная	580	–	251	43,3	46	7,9

Профилактическую эффективность препарата «Кутикулин» изучали на поросятах-отъемышах. Клиническое наблюдение за животными опытных и контрольных групп проводили с момента отъема поросят и до достижения ими 60-суточного возраста. В течение этого периода учитывали количество поросят, заболевших с признаками диареи и павших от гастроэнтеритов.

Результаты исследований, представленные в таблице 2, показывают, что из 250 поросят-отъемышей 1-й опытной группы, которым применяли препарат вместе с кашей, заболело 6 гол. (2,4%) и пало одно животное (0,4%), в то время как из 220 поросят-отъемышей, которым препарат не вводили, заболело 16 (7,3%) и пало 2 (0,9%) особей. Из 130 поросят 3-й опытной группы, которым препарат применяли с жидким кормом, заболело 7 животных (5,4%), падеж отсутствовал. В 4-й контрольной группе из 138 поросят заболело 62 (44,9%), пало 7 гол. (5,1%). Из 576 поросят-отъемышей 5-й опытной группы, которым препарат задавали с сухим кормом, заболело 138 (24,0%) и пало 37 (6,4%) животных. В 6-й контрольной группе из 580 гол. заболело 251 (43,3%) поросенок и пало 46 (7,9%) животных.

При использовании препарата «Кутикулин» регистрировали снижение заболеваемости поросят в первой, третьей и пятой опытных группах по сравнению со второй, четвертой и шестой контрольными в 2,7; 8,9 и 1,8 раза соответственно. Наиболее высокая профилактическая эффективность препарата установлена у поросят 3-й опытной группы, которым задавали его с жидким кормом в дозе 1,0 г. У поросят, получавших «Кутикулин», отмечали сокращение периода заболевания и уменьшение степени выраженности клинических симптомов.

На сегодняшний день нет единого мнения о механизмах действия тканевых препаратов. Биогенные стимуляторы действуют на организм в целом. Этим объясняется широта диапазона их влияния. Результаты наших исследований совпадают с выводами некоторых ученых о повышении общей реактивности и функционального состояния ретикулоэндотелиальной системы, активации работы желудочных желез, усилении иммунобиологической активности, стимулировании регенеративных процессов, газообмена, гемопоэза и других жизненно важных функций организма под влиянием тканевой терапии и, в частности, «Кутикулина» [21–24].

На фоне применения этих веществ ускоряется рост и развитие молодняка, увеличиваются привесы, повышается естественная резистентность организма, улучшается обмен веществ и воспроизводительная функция животных. Наблюдается снижение показателей заболеваемости и уменьшение процента падежа животных и птиц [25, 26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, препарат «Кутикулин» обладает лечебно-профилактическими свойствами при желудочно-кишечных расстройствах у телят и поросят, сложен в изготовлении и прост в использовании, что позволяет рекомендовать его для широкого практического применения. «Кутикулин» оказывает стимулирующее и нормализующее действие при нарушении функций пищеварительного тракта, а также в период отъема поросят от свиноматок и адаптации к новому безмолочному типу питания, снижает заболеваемость и падеж животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мавлютова А. Г., Сидорова К. А. Оценка состояния организма поросят при использовании биостимуляторов. *Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения: материалы LI Международной студенческой научно-практической конференции (16 марта 2017 г.)*. Тюмень: ГАУ Северного Зауралья; 2017; 196–198. eLIBRARY ID: 30096732.
2. Шикунова И. А. Современный механизм иммуномодуляции. *Vet-Pharma*. 2012; 1–2 (6–7): 30–33. eLIBRARY ID: 20504287.
3. Яхин О. И., Лубянов А. А., Яхин И. А. К вопросу о нормативно-правовом регулировании биостимуляторов. *Агрохимия*. 2020; 9: 87–96. DOI: 10.31857/S0002188120090124.
4. Макарова В. Н., Симанова И. Н., Бадеева О. Б., Корюкина М. В. Эпизоотологические аспекты острых желудочно-кишечных болезней новорожденных телят в хозяйствах Вологодской области. *Ветеринария и кормление*. 2019; 2: 26–27. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-2-9.
5. Коцюмбас І. Я., Жила М. І., Шкодьяк Н. В., Пятничко О. М. Методи контролю біологічної активності сучасних ветеринарних імуномодуляторів = Методы контроля биологической активности современных ветеринарных иммуномодуляторов. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Гжицького*. 2014; 16 (2-2): 165–174. eLIBRARY ID: 25480853.
6. Федота Н. В. Гематологические показатели и математическое моделирование биоритмов прироста живой массы у овец при действии биостимуляторов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ставрополь; 1998. 24 с. eLIBRARY ID: 30233652.
7. Острикова Э. Е. Динамика морфологического состава крови ремонтных свинок при использовании пробиотиков и биостимуляторов. *Ветеринарная патология*. 2012; 2: 67–69. eLIBRARY ID: 17878417.
8. Волюнкина М. Г., Иванова И. Е. Использование биостимулятора при выращивании поросят. *Электронный научный журнал*. 2017; 1-1 (16): 16–18. eLIBRARY ID: 28773239.
9. Краснова О. А., Лазарева К. В. Рост и развитие бычков чернопестрой породы при использовании биостимулятора. *Известия Горского государственного аграрного университета*. 2021; 58 (3): 83–87. eLIBRARY ID: 46596796.
10. Даричева Н. Н., Ермолаев В. А. Тканевая терапия в ветеринарной медицине. Ульяновск: УГСХА; 2011. 168 с. eLIBRARY ID: 19517178.
11. Пушкарев И. А., Куренинова Т. В., Шаньшин Н. В., Беляева Н. Ю. Влияние разных доз тканевого биостимулятора на белковый состав сыворотки крови лактирующих коров. *Вестник КрасГАУ*. 2020; 12: 96–101. DOI: 10.36718/1819-4036-2020-12-96-101.
12. Куренинова Т. В., Пушкарев И. А., Силивинова Т. Л., Шаньшин Н. В., Миронова А. В., Пушкарев В. А. Влияние нового тканевого биостимулятора на уровень молочной продуктивности коров. *Вестник Алтайского ГАУ*. 2019; 7 (177): 102–109. eLIBRARY ID: 41188987.
13. Кудашева А. В., Погачев Б. Г., Сеитов М. С., Провоторов Н. К. Способы лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний телят. *Известия Оренбургского государственного аграрного университета*. 2009; 4 (24): 162–163. eLIBRARY ID: 12990643.
14. Малкова Н. Н., Остякова М. Е., Голайдо Н. С., Ирхина В. К., Щербинина С. А., Гаврилов Ю. А., Гаврилова Г. А. Алиментарно-функциональная диарея телят и ее терапия. *Аграрный вестник Урала*. 2019; 181 (2): 29–35. DOI: 10.32417/article_5cb0aea9e2a880.36987343.
15. Дмитриев А. Ф., Агарков А. В. Разработка способа коррекции иммунобиологического статуса новорожденных животных. *Известия Горского государственного аграрного университета*. 2017; 54 (3): 102–108. eLIBRARY ID: 30031121.
16. Фролова М., Сложенкина М., Мосолов А. Микроводоросли – естественный биостимулятор роста. *Животноводство России*. 2021; 9: 55–56. DOI: 10.25701/ZZR.2021.31.46.010.
17. Makarova V. N., Koryukina M. V., Badeeva O. B., Simanova I. N. The use of immunostimulants for the animal diseases prevention. *AGRITech-IV-2020. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2021; 677:052103. DOI: 10.1088/1755-1315/677/5/052103.
18. Овсянников А. П., Сунагуллин Ф. А., Хайруллин Д. Д. Влияние биологического стимулятора по В. П. Филатову, с добавлением микроэлементов на биохимический состав крови телят. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2017; 231 (3): 112–114. eLIBRARY ID: 30016066.
19. Безбородов Н., Бондаренко Е. Применение иммуномодулятора тимогена для лечения телят с функциональной диспепсией. *Молочное и мясное скотоводство*. 2009; 2: 24–26. eLIBRARY ID: 12913577.
20. Петрова О. Г., Алексеев А. Д. Применение растительно-тканевого препарата для лечения и профилактики желудочно-кишечных инфекций у телят в Уральском регионе. *Научно-методический электронный журнал «Концепт»*. 2014; 20: 1046–1050. Режим доступа: <http://e-koncept.ru/2014/54473.htm>.
21. Калашник И. А. Тканевая терапия в ветеринарии. М.: Сельхозгиз; 1960. 103 с.

22. Федота Н. В., Санников М. Ю. Биоритмическая характеристика роста баранчиков при воздействии препарата, полученного из тканей головного мозга. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2012; 1: 26–31. eLIBRARY ID: 17588050.

23. Данилова Л. Г., Некрасова И. И. Влияние длительной адаптации к условиям юга России на экстерьерные и физиологические показатели пастушьих собак породы австралийский келпи. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2009; 196: 107–113. eLIBRARY ID: 22290710.

24. Федота Н. В. Технология повышения активности и продления сроков хранения тканевых препаратов. *Вестник Саратовского государственного университета им. Н. И. Вавилова*. 2012; 6: 42–43. eLIBRARY ID: 17786470.

25. Линник А. А., Алексеева С. А., Кузнецов О. Ю. Эффективность применения нового биостимулятора в птицеводстве. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2015; 7: 151–153. eLIBRARY ID: 28899344.

26. Рыжкова Г. Ф., Александрова Е. В., Евлевский А. А., Евлевская Е. П. Влияние биостимуляторов на основе янтарной кислоты на морфологические и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2011; 5: 71–74. eLIBRARY ID: 17704182.

REFERENCES

- Mavlyutova A. G., Sidorova K. A. Otsenka sostoyaniya organizma porosyat pri ispol'zovanii biostimulyatorov = Body condition assessment in biostimulant-treated piglets. *Aktual'nye voprosy nauki i hozjajstva: novye vyzovy i resheniya: materialy LI Mezhdunarodnoj studencheskoj nauchno-prakticheskoy konferencii = Topical issues of science and economy: new challenges and solutions: proceedings of the LI International Student Research-to-Practice Conference (16 March 2017)*. Tyumen: Northern Trans-Ural SAU; 2017; 196–198. eLIBRARY ID: 30096732. (in Russ.)
- Shkunova I. A. Sovremennyy mehanizm immunomoduljatsii = Contemporary immunomodulation mechanism. *VetPharma*. 2012; 1–2 (6–7): 30–33. eLIBRARY ID: 20504287. (in Russ.)
- Yakhin O. I., Lubyantov A. A., Yakhin I. A. Regarding the challenge of biostimulants legal and regulatory framework. *Agricultural Chemistry*. 2020; 9: 87–96. DOI: 10.31857/S0002188120090124. (in Russ.)
- Makarov V. N., Simanova I. N., Badeeva O. B., Korukina M. V. Epi-zootological aspects of acute gastrointestinal diseases of newborn calves in the farms of the Vologda region. *Veterinaria i kormlenie*. 2019; 2: 26–27. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-2-9. (in Russ.)
- Kotumbas I. Y., Zhyla M. I., Shkodiak N. V., Pyatnychko O. M. The control methods of biological activity of modern veterinary immunomodulators. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*. 2014; 16 (2-2): 165–174. eLIBRARY ID: 25480853. (in Ukrainian)
- Fedota N. V. Gematologicheskie pokazateli i matematicheskoe modelirovanie bioritmov prirosta zhivoj massy u ovets pri dejstvii biostimulyatorov = Hematological parameters and mathematical modeling of live weight gain biorhythms in biostimulant-treated sheep: author's abstract of Candidate of Science (Biology) thesis. Stavropol; 1998. 24 p. eLIBRARY ID: 30233652. (in Russ.)
- Ostrickova E. E. Dynamics morphological composition of the blood repair pigs at used probiotics and biostimulators. *Veterinarnaya patologiya*. 2012; 2: 67–69. eLIBRARY ID: 17878417. (in Russ.)
- Volyunkina M. G., Ivanova I. E. Ispol'zovanie biostimulyatora pri vyra-shhivani porosjat = Biostimulant use in piglet rearing. *The Electronic Scientific Journal*. 2017; 1-1 (16): 16–18. eLIBRARY ID: 28773239. (in Russ.)
- Krasnova O. A., Lazareva K. V. Growth and development of black-pied bull calves when using a biostimulator. *Proceedings of Gorsk State Agrarian University*. 2021; 58 (3): 83–87. eLIBRARY ID: 46596796. (in Russ.)
- Daricheva N. N., Ermolaev V. A. Tissue therapy in veterinary medicine. Ulyanovsk: Ulyanovsk SAA; 2011. 168 p. eLIBRARY ID: 19517178. (in Russ.)
- Pushkarev I. A., Kureninova T. V., Shanshin N. V., Belyaeva N. Yu. The effect of different doses of tissue bio-stimulant on blood serum pro-

tein composition in lactating cows. *Bulletin of KrasSAU*. 2020; 12: 96–101. DOI: 10.36718/1819-4036-2020-12-96-101. (in Russ.)

12. Kureninova T. V., Pushkarev I. A., Silivirova T. L., Shanshin N. V., Mironova A. V., Pushkarev V. A. The influence of a new tissue biostimulant on cow milk production level. *Vestnik Altaiskogo SAU*. 2019; 7 (177): 102–109. eLIBRARY ID: 41188987. (in Russ.)

13. Kudasheva A. V., Rogachev B. G., Seitov M. S., Provotorov N. K. Methods of treatment and prophylaxis of gastric-intestinal diseases in calves. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2009; 4 (24): 162–163. eLIBRARY ID: 12990643. (in Russ.)

14. Malkova N. N., Ostyakova M. E., Golaydo N. S., Irkhina V. K., Shcherbina S. A., Gavrilov Yu. A., Gavrilova G. A. Alimentary-functional diarrhea of calves and its therapy. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2019; 181 (2): 29–35. DOI: 10.32417/article_5cb0aea9e2a880.36987343. (in Russ.)

15. Dmitriev A. F., Agarkov A. V. Development of a correction method for the immunobiological status of newborn animals. *Proceedings of Gorsk State Agrarian University*. 2017; 54 (3): 102–108. eLIBRARY ID: 30031121. (in Russ.)

16. Frolova M., Slozhenkina M., Mosolov A. Micro seaweeds – a natural biogrowth factor. *Animal Husbandry of Russia*. 2021; 9: 55–56. DOI: 10.25701/ZZR.2021.31.46.010. (in Russ.)

17. Makarova V. N., Koryukina M. V., Badeeva O. B., Simanova I. N. The use of immunostimulants for the animal diseases prevention. *AGRITech-IV-2020. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 2021; 677:052103. DOI: 10.1088/1755-1315/677/5/052103.

18. Ovsyannikov A. P., Sunagatullin F. A., Khayrullin D. D. The impact of a biological pacemaker according to V. P. Filatov, with the addition of microelements on biochemical composition of blood of calves. *Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary*. 2017; 231 (3): 112–114. eLIBRARY ID: 30016066. (in Russ.)

19. Bezborodov N., Bondarenko E. Primenenie immunomodulyatora timogena dlja lechenija teljat s funktsional'noj dispepsiej = The use of the immunomodulator Thymogen for treatment of calves with functional dyspepsia. *Dairy and Beef Cattle Farming*. 2009; 2: 24–26. eLIBRARY ID: 12913577. (in Russ.)

20. Petrova O. G., Alekseev A. D. The use of plant-tissue preparation for the treatment and prevention of gastrointestinal infections in calves in the Ural Region. *Scientific-methodological electronic journal "Concept"*. 2014; 20: 1046–1050. Available at: <http://e-koncept.ru/2014/54473.htm>. (in Russ.)

21. Kalashnik I. A. Tissue therapy in veterinary medicine. Moscow: Sel'khozgiz; 1960. 103 p. (in Russ.)

22. Fedota N. V., Sannikov M. Ju. Biorhythms of the growth in young rams under feeding preparation obtained from brain tissues. *Problems of Productive Animal Biology*. 2012; 1: 26–31. eLIBRARY ID: 17588050. (in Russ.)

23. Danilova L. G., Nekrasova I. I. Vlijanie dlitel'noj adaptatsii k usloviyam juga Rossii na jekster'ernye i fiziologicheskie pokazateli pastush'ih sobak porody avstralijskij kelpi = The effect of a long term adaptation to southern Russia conditions on the exterior and physiological characteristics of Australian Kelpie sheepdogs. *Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary*. 2009; 196: 107–113. eLIBRARY ID: 22290710. (in Russ.)

24. Fedota N. V. Technology of activity increasing and prolongation of storage term of tissue preparations. *The Agrarian Scientific Journal*. 2012; 6: 42–43. eLIBRARY ID: 17786470. (in Russ.)

25. Linnik A. A., Alekseeva S. A., Kuznetsov O. Y. Efficiency of application of the new biostimulator in poultry farming. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2015; 7: 151–153. eLIBRARY ID: 28899344. (in Russ.)

26. Ryzhkova G. F., Aleksandrova E. V., Evglevskij A. A., Evglevskaja E. P. Vlijanie biostimulyatorov na osnove jantarnoj kisloty na morfologicheskie i biokhimicheskie pokazateli krovi cypjat-brojlery = The effect of succinic acid-based biostimulants on the morphological and biochemical blood profile of broiler chickens. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2011; 5: 71–73. eLIBRARY ID: 17704182. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 24.12.2021

Поступила после рецензирования / Revised 07.02.2022

Принята к публикации / Accepted 21.02.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Корюкина Марина Вениаминовна, научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Вологда, Россия.

Макарова Вера Николаевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Вологда, Россия.

Бадеева Оксана Борисовна, старший научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Вологда, Россия.

Симанова Ирина Николаевна, соискатель, руководитель Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Вологда, Россия.

Marina V. Koryukina, Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, Vologda, Russia.

Vera N. Makarova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, Vologda, Russia.

Oksana B. Badeeva, Senior Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, Vologda, Russia.

Irina N. Simanova, Post-Graduate Student, Head of Vologda Branch of the FSC VIEV, Vologda, Russia.



Состояние биохимического профиля крови и уровня эндогенной интоксикации у коров с гепатопатиями в условиях теплового стресса

Е. В. Кузьмина¹, Е. Н. Рудь², М. П. Семененко³, А. А. Абрамов⁴

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», г. Краснодар, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>, e-mail: niva1430@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-1160-4411>, e-mail: rudkaterina@bk.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-8266-5900>, e-mail: sever291@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5839-1281>, e-mail: abramov1527@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Глобальное потепление приводит к увеличению частоты экстремальных погодных явлений, включая волны жары, засухи и наводнений, превышающие пороги чувствительности растений и животных, что несет в себе угрозу для экономики и сельского хозяйства. В этих условиях тепловой стресс становится актуальной проблемой для животноводства. В статье представлены результаты изучения биохимического профиля и состояния эндогенной интоксикации у коров с гепатопатиями в условиях теплового стресса. На основании расчетных показателей температурно-влажностного индекса зарегистрировано, что в летний период в условиях равнинной территории Краснодарского края коровы находятся в состоянии теплового стресса. По принципу парных аналогов было сформировано две группы животных ($n = 10$): первая – здоровое поголовье, вторая – с патологией печени. Забор крови у всех коров производили в начале эксперимента (первая декада мая) и по его окончании (последняя декада июля). Проведенными лабораторными исследованиями крови выявлено, что при развитии теплового стресса у здоровых коров происходит повышение протеинового спектра крови, а у животных с гепатопатологией, наоборот, наблюдается ингибирование белкового метаболизма. Установлена более высокая активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы в сыворотке крови коров в летний период относительно весеннего. В результате изучения динамики уровня эндогенной интоксикации в организме коров при развитии теплового стресса показано, что в обеих группах концентрации молекул средней массы (МСМ) увеличились относительно фоновых данных: в первой группе (здоровые коровы) МСМ 237 – на 11,8%, МСМ 254 – на 14,4%, МСМ 280 – на 16,9%; во второй группе (коровы с патологией печени) МСМ 237 – на 16,9%, МСМ 254 – на 20,3%, МСМ 280 – на 33%. Таким образом, при тепловом стрессе интенсивность увеличения эндогенной интоксикации у здорового поголовья была почти в 1,5 раза ниже относительно животных с гепатопатиями.

Ключевые слова: коровы, печень, гепатопатии, биохимические показатели, эндогенная интоксикация, тепловой стресс

Благодарности: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-316-90009.

Для цитирования: Кузьмина Е. В., Рудь Е. Н., Семененко М. П., Абрамов А. А. Состояние биохимического профиля крови и уровня эндогенной интоксикации у коров с гепатопатиями в условиях теплового стресса. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 135–141. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-135-141.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Кузьмина Елена Васильевна, доктор ветеринарных наук, доцент, главный научный сотрудник отдела фармакологии Краснодарского научно-исследовательского ветеринарного института – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «КНЦЗВ», 350004, Россия, г. Краснодар, ул. 1-я Линия, д. 1, e-mail: niva1430@mail.ru.

Biochemical blood parameters and level of endogenous intoxication in cows suffering from hepatopathies under heat stress

E. V. Kuzminova¹, E. N. Rud², M. P. Semenenko³, A. A. Abramov⁴

Federal State Budget Scientific Institution "Krasnodar Research Center for Animal Husbandry and Veterinary Medicine", Krasnodar, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>, e-mail: niva1430@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-1160-4411>, e-mail: rudkaterina@bk.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-8266-5900>, e-mail: sever291@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5839-1281>, e-mail: abramov1527@mail.ru

SUMMARY

Global warming results in increased extreme weather events, including heatwaves, droughts and floods, which exceed plants' and animals' tolerance thresholds, thus posing a threat to the economy and agriculture. Under these conditions, heat stress becomes a vital problem for animal husbandry. The paper presents the study results of biochemical blood parameters and endogenous intoxication in cows suffering from hepatopathies under heat stress. Based on the calculated temperature-humidity index, it was established that during the summer season in the conditions of the Krasnodar Krai lowlands, cows are under heat stress. Using the method of paired comparisons, two groups of animals ($n = 10$) were formed: the first group was a healthy livestock; and the second group consisted of animals suffering from hepatic pathologies. Blood was sampled from all cows at the beginning of the experiment (the first decade of May) and at the end (the last decade of July). Laboratory tests of blood revealed that as the heat stress develops healthy cows show the increase in the protein concentration in blood, and, on the contrary, animals with hepatic pathologies demonstrate the inhibition of protein synthesis. The higher activity of aminotransferases and alkaline phosphatase in the bovine serum in the summer season when compared to the spring season was established. The study of the endogenous intoxication level dynamics in cattle during the development of heat stress, showed that in both groups the concentrations of middle molecules (MM) increased relative to the background data: in the first group (healthy cows) MM 237 – by 11.8%, MM 254 – by 14.4%, MM 280 – by 16.9%; in the second group (cattle with liver pathology) MM 237 – by 16.9%, MM 254 – by 20.3%, MM 280 – by 33%. Thus, under heat stress, the endogenous intoxication in healthy livestock was almost 1.5 times less intense as compared to the animals suffering from hepatopathies.

Keywords: cattle, liver, hepatopathies, biochemical parameters, endogenous intoxication, heat stress

Acknowledgements: The research was financially supported by the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) as part of Scientific Project No. 20-316-90009.

For citation: Kuzminova E. V., Rud E. N., Semenenko M. P., Abramov A. A. Biochemical blood parameters and level of endogenous intoxication in cows suffering from hepatopathies under heat stress. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 135–141. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-135-141.

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

For correspondence: Elena V. Kuzminova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Chief Researcher, Department for Pharmacology, Krasnodar RVI – Detached Unit FSBSI "KRCANVM", 350004, Russia, Krasnodar, ul. 1-ya Liniya, d. 1, e-mail: niva1430@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Изменение климата, вызванное деятельностью человека, является причиной опасных и широкомаштабных нарушений в природе, затрагивающих жизни миллиардов людей во всем мире. По данным, представленным в докладе Межправительственной группы экспертов по изменению климата, последние семь лет были самыми жаркими на планете, причем каждый год жарче предыдущего за всю историю наблюдений за погодой. Ученые утверждают, что в ближайшее время эта тенденция сохранится, и уже к 2030 г. температура Земли повысится на 1,5 градуса. Помимо потепления происходит разбалансировка всех природных систем, приводящая к изменению режима выпадения осадков, температурным аномалиям и увеличению частоты экстремальных явлений, таких как ураганы, наводнения и засухи [1–4].

Потепление климата несет в себе угрозу для экономики и сельского хозяйства, поскольку усиление волн жары, засух и наводнений уже превышает пороги чувствительности растений и животных. В этих условиях тепловой стресс становится актуальной проблемой для высокопродуктивного молочного скотоводства.

Тепловой стресс – это результат дисбаланса между притоком тепла из окружающей среды и его выделением организмом. К развитию теплового стресса может привести высокая температура воздуха в совокупности с повышенной или, наоборот, очень низкой влажностью. У современных пород крупного рогатого скота зона комфорта находится в диапазоне температур от 4 до 20 °C, а для высокопродуктивных – от 9 до 16 °C. Самые распространенные в промышленном содержании

на территории России породы молочных коров, такие как голштинская, более приспособлены к холодным погодным условиям, но чувствительны к жаре. Тепловой стресс у коров, возникающий во время лактации, уменьшает продуктивность животных из-за снижения надоев и качества молока, ухудшает состояние здоровья и сокращает продолжительность жизни поголовья, что в конечном итоге приводит к серьезным экономическим потерям для животноводческой отрасли [5–11].

При интенсивной технологии ведения молочного скотоводства стремление к максимальному повышению продуктивности коров без достаточного учета физиологических потребностей животных ведет к метаболической переориентации, функциональным перегрузкам органов и систем организма, и в первую очередь печени. По данным ветеринарной отчетности, в последние годы в общем объеме выбытия животных болезни органов пищеварения занимают лидирующее место и в ряде хозяйств достигают 40% [12–14]. Поскольку в химической терморегуляции организма печень играет значительную роль, то при тепловом стрессе, в первую очередь у животных с гепатопатиями, развиваются серьезные нарушения общего метаболизма, часто приводящие к гибели. Молочная продуктивность у этих коров обычно не восстанавливается до исходного уровня, такие животные не оплодотворяются, и их выбраковывают [15, 16].

Состояние животных при воздействии стресс-факторов обусловлено выраженностью нарушений в различных органах и системах организма, а также степенью развития гипоксии и эндотоксикоза. Синдром эндогенной интоксикации относится к наиболее

распространенному в клинической практике и наблюдается при самых различных патологиях.

Эндогенная интоксикация – это процесс, обусловленный накоплением в аномально высоких концентрациях в тканях и биологических жидкостях эндотоксинов – продуктов естественного обмена (медиаторов воспаления, экзо- и эндотоксинов, продуктов клеточной и белковой деградации и др.), превышающих функциональные возможности естественных систем обезвреживания с последующим повреждением органов и систем организма. С учетом этого проблема синдрома эндогенной интоксикации остается одной из наиболее актуальных в медицине, что связано с важной ролью эндотоксикоза как звена патогенеза и фактора, определяющего тяжесть течения и исход самых различных заболеваний. Одним из ведущих компонентов прогрессирования эндотоксикоза является неспособность детоксицирующих систем и органов справляться с токсинами, что определяется срывом адаптационных механизмов и формированием морфофункциональных расстройств органов детоксикационной системы, и в первую очередь печени [17–23].

В этой связи интерес представляют исследования по определению изменений в биохимическом профиле и состоянии эндогенной интоксикации у коров с гепатопатиями в условиях теплового стресса, что в дальнейшем позволит разрабатывать эффективные стратегии фармакокоррекции организма животных при воздействии высоких температур окружающей среды.

Цель работы – определить изменения в биохимическом профиле крови и состоянии эндогенной интоксикации у коров с гепатопатиями в условиях теплового стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научные исследования проводились в животноводческом хозяйстве, расположенном в Кореновском районе Краснодарского края, где содержится крупный рогатый скот голштинской породы.

Период для изучения биохимических показателей и уровня эндогенной интоксикации в организме коров при тепловом стрессе определяли ретроспективным анализом на основании расчетных показателей температурно-влажностного индекса (ТВИ) в 2018–2020 гг. с учетом среднесуточной температуры и влажности окружающей среды. Индекс рассчитывали по формуле: $TBI = 0,8 \times T + (B/100 \times (T - 14,4)) + 46,4$, где T – температура окружающей среды ($^{\circ}C$); B – относительная влажность воздуха (%). Результаты оценивались по следующим критериям: ТВИ менее 68 указывает на то, что скот находится в зоне комфорта; от 72 до 79 – животные испытывают умеренный тепловой стресс; от 80 до 89 – высокий тепловой стресс; более 90 – крайне высокий тепловой стресс; свыше 100 – возможен летальный исход.

Для проведения исследований в мае по принципу парных аналогов было сформировано две группы коров по 10 гол. в каждой. Первая группа – здоровое поголовье, вторая – с патологией печени. В опыт отбирали животных, ранжированных по физиологическому состоянию (2–3-й месяц лактации), результатам клинического обследования, биохимическому анализу крови, а также по показателям ультразвуковой диагностики печени.

Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с Европейской конвенцией о защите позво-

ночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях ETS № 123 (Страсбург, 18 марта 1986 г.).

Для определения степени теплового стресса у коров рассчитывали значение ТВИ за 5 месяцев (с апреля по август 2021 г.).

Пробы крови для исследований отбирали у всех коров в первой декаде мая и в последней декаде июля.

Клиническое обследование проводили по общепринятой схеме, обращая особое внимание на окраску слизистых оболочек, состояние шерстного покрова, количество сокращений рубца, а для установления границ печеночного притупления, характера поверхности и чувствительности органа осуществляли пальпацию и перкуссию печени.

Ультразвуковую диагностику проводили при помощи ветеринарного ультразвукового сканера PS-380V (Россия) с длиной волны датчика 5,0 МГц. Оценивались эхогенность, структура и звукопроводимость паренхимы ткани печени.

Лабораторные исследования крови проводили на автоматизированном биохимическом анализаторе Vitalab Selectra Junior (Vital Scientific B.V., Нидерланды) с использованием реактивов фирмы ELITech Clinical Systems (Франция) и компании Analyticon biotechnologies AG (Германия). Тимоловую пробу ставили с использованием реактивов фирмы ЗАО «ЭКОлаб» (Россия).

При определении уровня эндогенной интоксикации используются интегральные биологические тесты, среди которых важное место отводится определению в биологических жидкостях молекул средней массы (МСМ), характеризующихся одним общим свойством – молекулярной массой от 300 до 5000 Д. Содержание МСМ в сыворотке крови определяли с помощью скрининг-метода Н. И. Габриэлян и В. И. Липатовой [24] при трех длинах волн: $\lambda = 237$ нм (МСМ 237), $\lambda = 254$ нм (МСМ 254) и $\lambda = 280$ нм (МСМ 280). Для регистрации оптической плотности в ультрафиолетовой области спектра использовался спектрофотометр «Эковью УФ-1100» (Sanghai Mapada Instruments Co., Ltd, Китай).

Полученные цифровые данные обработаны методами вариационной статистики с определением достоверности значений по t -критерию Стьюдента и уровня достоверности различий показателей по группам.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенными исследованиями установлено, что в летний период в условиях равнинной территории Краснодарского края коровы наводятся в состоянии теплового стресса (ТВИ более 72) с преобладанием по степени тяжести умеренного теплового стресса (табл. 1).

Расчет температурно-влажностного индекса по Кореновскому району Краснодарского края за 5 месяцев 2021 г. показал, что уже в мае коровы начинают испытывать тепловой стресс. Все следующие летние месяцы практически во все определяемые периоды животные находятся в состоянии умеренного теплового стресса (табл. 2).

В группу животных с патологией печени отбирали коров, у которых при клиническом обследовании зарегистрированы следующие нарушения: шерстный покров тусклый и ломкий, шелушение эпидермиса (у 100% животных), обширные алопеции (у 60%); бледность слизистых (у 80%), иктеричность (у 20%);

Таблица 1

Динамика температурно-влажностного индекса в период с мая по август 2018–2020 гг. по Кореновскому району Краснодарского края

Table 1

Dynamics of the temperature-humidity index from May to August in 2018–2020 in the Korenovsky Raion, Krasnodar Krai

Дата	Температурно-влажностный индекс			Среднее значение за 3 года
	2018 г.	2019 г.	2020 г.	
1 мая	69,15	65,79	62,82	65,92
10 мая	67,32	69,63	64,67	67,21
20 мая	70,21	70,73	61,97	67,64
1 июня	70,25	76,57	70,47	72,43
10 июня	74,57	76,75	74,28	75,20
20 июня	79,09	74,92	74,14	76,05
1 июля	78,20	74,90	77,56	76,89
10 июля	77,20	70,53	74,88	74,21
20 июля	78,86	71,70	74,01	74,86
1 августа	75,55	71,16	73,24	73,32
10 августа	74,11	75,48	72,94	74,18
20 августа	76,43	74,51	73,42	74,79

Таблица 2

Динамика температурно-влажностного индекса за 5 месяцев 2021 г. по Кореновскому району Краснодарского края

Table 2

Dynamics of the temperature-humidity index within the five months of 2021 in the Korenovsky Raion, Krasnodar Krai

Среднее значение по периодам	Апрель	Май	Июнь	Июль	Август
Первая декада месяца	53,67	63,72	64,88	74,17	77,06
Вторая декада месяца	54,12	67,28	72,80	75,36	72,54
Третья декада месяца	58,33	69,75	74,78	76,08	76,11
За месяц	55,37	67,01	70,82	75,23	75,26

дистония преджелудков с нарушением ритмичности и силы руминаций (у 100%); одномоментное увеличение зоны печеночного притупления и повышение болевой чувствительности у 70% животных, а у остальных коров (30%) регистрировался только один из симптомов.

Ультразвуковой диагностикой печени и желчевыведительной системы был подтвержден диагноз – гепатоз: печень увеличена, края долей закруглены, неровные, смазанные, эхоструктура неоднородная, мелкозернистого типа, повышенной эхогенности, отмечены очаги жировой дистрофии гепатоцитов.

За период опыта при развитии теплового стресса одна корова из 2-й группы (первая декада июля) была отправлена на вынужденный убой, а при диагностическом вскрытии подтвердился диагноз – жировой гепатоз.

При постановке опыта проводили биохимические исследования и в группу животных с патологией печени отбирали коров с нарушениями в биохимическом профиле крови (табл. 3). Так, у выбранных животных установлен низкий уровень общего белка ($76,50 \pm 2,48$ г/л) и мочевины ($2,98 \pm 0,07$ ммоль/л), что свидетельствует о снижении протеинсинтезирующей функции печени. Положительная тимоловая проба (со степенью выраженности +, при максимуме в ++++) позволила диагностировать воспалительный процесс в печени, в том числе в печеночной паренхиме. Наличие цитолитического синдрома, проявляющегося разрушением мембран гепатоцитов и выходом в кровяное русло ферментов переаминирования – трансаминаз (аланин-аминотрансферазы – АлАТ и аспартатаминотрансферазы – АсАТ), подтверждалось тем, что у больных коров регистрировали умеренную гиперферментемию с разницей в сравнении с показателями здоровых коров по АлАТ в 27,2% и по АсАТ в 31,3%. Активность щелочной фосфатазы (ЩФ) превышала параметры нормы и превосходила на 20,2% уровень фермента у здоровых коров, что может указывать на состояние холестаза. У больных животных была установлена гипогликемия при разнице со здоровыми коровами в концентрации глюкозы в 16,9%.

Уровень эндогенной интоксикации у коров с патологией печени был выше относительно здоровых животных с разницей по МСМ 237 в 20%, МСМ 254 в 25,1% и МСМ 280 в 21%.

В результате развития теплового стресса у коров изменялся биохимический профиль крови. Так, у здорового поголовья количество общего белка в сыворотке крови увеличивалось на 6%. Скорее всего, повышению протеинового спектра крови способствует общая дегидратация организма коров в условиях гипертермии, приводящая к сгущению крови с увеличением в ней уровня общего белка. Также возможно, что в процессе адаптации животных к высоким температурам окружающей среды увеличение содержания общего белка в крови опосредуется кортикостероном, который регулирует физико-химические механизмы поддержания объема крови при дегидратации за счет осмотического давления. При перегревании в организме, вероятно, происходит нарушение мочевинообразующей функции печени, поскольку в группе здоровых коров, несмотря на повышение концентрации общего белка, содержание мочевины в сыворотке крови снизилось на 26,2% ($p \leq 0,01$) от фоновых показателей. У животных с гепатопатологией на фоне теплового стресса наблюдалось дальнейшее ингибирование белкового метаболизма при достоверном ($p \leq 0,05$) снижении в сыворотке крови концентраций общего белка на 7,8% и мочевины на 12,9%.

В сыворотке крови коров установлена более высокая активность аминотрансфераз в летний период относительно весеннего. Причем активность АлАТ у здоровых животных приближалась к верхним значениям референсных показателей и составила ($34,90 \pm 0,96$) Ед/л, что на 14,6% больше исходных данных (при $p \leq 0,05$). У коров 2-й группы данный показатель был выше – ($40,80 \pm 1,53$) Ед/л (разница с началом опыта составила 7,1%). Увеличение активности АлАТ в сыворотке крови рассматривается как индикатор деструкции гепатоцитов, и, возможно, у коров с дистрофией печени значимая доля гепатоцитов уже была

разрушена, что и обусловило менее выраженное увеличение энзима у этих животных. Концентрация АсАТ у здоровых коров практически не изменилась, а у больного поголовья повысилась на 10,5%.

Выявлена закономерность увеличения активности ЩФ у всех опытных животных, составившего в 1-й группе 8,9% и во 2-й группе 11,5%. Возрастание активности ЩФ может быть обусловлено не только влиянием теплового стресса, но и повышенной активностью как плацентарной (маркер нормального функционирования фетоплацентарной системы), так и костной изоформ (созревание матрикса и минерализация костей плода) щелочной фосфатазы. Поскольку у всех коров, отобранных в опыт, происходило увеличение срока стельности, гиперферментемия в этом случае носила физиолого-приспособительный характер, обусловленный изменениями, происходящими в организме беременного животного.

У всех животных отмечена тенденция к снижению концентрации глюкозы в сыворотке крови с наиболее выраженными изменениями во 2-й группе при разнице к фоновым данным в 6,8%. Возможный патофизиологический механизм этих изменений реализуется за счет обратной зависимости между уровнем кортизола и глюкозы, что приводит к истощению запасов глюкозы и гликогена в печени, а также снижению функций инсулярного аппарата организма животных при воздействии стресс-факторов.

В результате изучения динамики уровня эндогенной интоксикации организма коров при развитии теплового стресса установлено, что в обеих группах показатели МСМ увеличились относительно фоновых данных: в 1-й группе (здоровые коровы) МСМ 237 – на 11,8%, МСМ 254 – на 14,4%, МСМ 280 – на 16,9%; во 2-й группе (коровы с патологией печени) МСМ 237 – на 16,9%, МСМ 254 – на 20,3%, МСМ 280 – на 33%. В целом полученные результаты исследо-

ваний подтверждают данные о том, что длительное воздействие факторов, напрягающих гомеостаз, переводит организм на более низкий уровень реактивности. При стрессе перед организмом стоит задача по сохранению нормального гомеостаза и его оптимизации, но при длительном воздействии в тканях и биологических жидкостях организма происходит накопление избытка продуктов нормального либо нарушенного метаболизма, что обуславливает развитие эндогенной интоксикации с повышением уровня МСМ в крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в летний период в условиях равнинной территории Краснодарского края крупный рогатый скот постоянно находится в состоянии теплового стресса. При его развитии у здоровых коров происходит повышение протеинового спектра крови, чему способствует общая дегидратация организма животных в условиях гипертермии, приводящая к сгущению крови и увеличению в ней уровня общего белка. У коров с гепатопатологией на фоне теплового стресса, наоборот, наблюдалось ингибирование белкового метаболизма, что свидетельствует о недостаточном уровне протеин-синтезирующей функции печени. Установлена более высокая активность аминотрансфераз и щелочной фосфатазы в сыворотке крови коров в летний период относительно весеннего. Выявлены изменения в динамике показателей, характеризующих развитие синдрома эндогенной интоксикации при тепловом стрессе у молочного скота. Интенсивность увеличения концентрации молекул средней массы в сыворотке крови у здорового поголовья была почти в 1,5 раза ниже относительно животных с гепатопатиями. Возможно, эта закономерность объясняется тем, что у коров с больной печенью уровень приспособительно-компенсаторных реакций

Таблица 3

Динамика биохимических показателей и маркеров эндогенной интоксикации в крови коров при тепловом стрессе ($M \pm m$, $n = 10$)

Table 3

Dynamics of biochemical parameters and endogenous intoxication markers in bovine blood under heat stress ($M \pm m$, $n = 10$)

Показатели	1-я группа здоровые животные		2-я группа животные с гепатопатологией	
	начало опыта	конец опыта	начало опыта	конец опыта
Белок общий, г/л	82,60 $\pm$ 3,12	87,90 $\pm$ 2,26	76,50 $\pm$ 2,48	70,90 $\pm$ 0,52*
Мочевина, ммоль/л	5,11 $\pm$ 0,15	4,05 $\pm$ 0,09**	2,98 $\pm$ 0,07	2,64 $\pm$ 0,11*
Тимоловая проба, усл. ед.	–	–	+	++
АлАт, Ед/л	29,80 $\pm$ 2,13	34,90 $\pm$ 0,96*	37,90 $\pm$ 2,95	40,80 $\pm$ 1,53
АсАт, Ед/л	90,40 $\pm$ 5,46	93,70 $\pm$ 4,51	118,70 $\pm$ 3,54	132,60 $\pm$ 5,74
ЩФ, Ед/л	129,10 $\pm$ 3,15	141,80 $\pm$ 3,16*	163,20 $\pm$ 4,33	184,50 $\pm$ 2,50**
Глюкоза, ммоль/л	2,56 $\pm$ 0,12	2,47 $\pm$ 0,14	2,19 $\pm$ 0,19	2,05 $\pm$ 0,15
МСМ 237, усл. ед.	0,638 $\pm$ 0,033	0,723 $\pm$ 0,021*	0,759 $\pm$ 0,024	0,913 $\pm$ 0,016**
МСМ 254, усл. ед.	0,195 $\pm$ 0,020	0,229 $\pm$ 0,013*	0,244 $\pm$ 0,012	0,306 $\pm$ 0,019**
МСМ 280, усл. ед.	0,181 $\pm$ 0,012	0,218 $\pm$ 0,029	0,219 $\pm$ 0,008	0,327 $\pm$ 0,014*

Различия достоверны: * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ по отношению к фоновым данным.

Differences are significant: $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$ as compared to the background data.

организма недостаточный и при длительной стрессовой нагрузке наблюдается значительное повышение интегральных показателей эндотоксикоза, которые служат дополнительной причиной нарушения различных функций организма. Полученные результаты могут служить обоснованием при разработке эффективной стратегии фармакокоррекции теплового стресса крупного рогатого скота.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Межправительственная группа экспертов по изменению климата (МГЭИК). Изменение климата: угроза благополучию человека и здоровью планеты: пресс-релиз от 28 февраля 2022 г. Режим доступа: https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg2/downloads/press/IPCC_AR6_WGII_PressRelease-Russian.pdf.
2. Доклад о климатических рисках на территории Российской Федерации. СПб; 2017. 106 с. Режим доступа: <https://meteoinfo.ru/images/media/books-docs/klim-riski-2017.pdf>.
3. Природно-климатические условия и социально-географическое пространство России. Ред. А. Н. Золотокрылин, В. В. Виноградова, О. Б. Глезер. М.: Институт географии РАН; 2018. 154 с. DOI: 10.15356/ncsgsrus.
4. Gårdmark A., Huss M. Individual variation and interactions explain food web responses to global warming. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2020; 375 (1814):20190449. DOI: 10.1098/rstb.2019.0449.
5. Matthews T. K., Wilby R. L., Murphy C. Communicating the deadly consequences of global warming for human heat stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114 (15): 3861–3866. DOI: 10.1073/pnas.1617526114.
6. Рудь Е. Н., Кузьмина Е. В., Семененко М. П., Абрамов А. А., Рудь Н. А. Проблема теплового стресса в молочном животноводстве. *Ветеринария Кубани.* 2020; 3: 10–11. DOI: 10.33861/2071-8020-2020-3-10-11.
7. Bernabucci U., Biffani S., Buggiotti L., Vitali A., Lacetera N., Nardone A. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2014; 97 (1): 471–486. DOI: 10.3168/jds.2013-6611.
8. Pinto S., Hoffmann G., Ammon C., Amon T. Critical THI thresholds based on the physiological parameters of lactating dairy cows. *J. Therm. Biol.* 2020; 88:102523. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2020.102523.
9. Hoffmann G., Herbut P., Pinto S., Heinicke J., Kuhla B., Amon T. Animal-related, non-invasive indicators for determining heat stress in dairy cows. *Biosystems Engineering.* 2020; 199: 83–96. DOI: 10.1016/j.biosystemseng.2019.10.017.
10. Dahl G. E., Skibiell A. L., Laporta J. In Utero Heat Stress Programs Reduced Performance and Health in Calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2019; 35 (2): 343–353. DOI: 10.1016/j.cvfa.2019.02.005.
11. Skibiell A. L., Zachut M., do Amaral B. C., Levin Y., Dahl G. E. Liver proteomic analysis of postpartum Holstein cows exposed to heat stress or cooling conditions during the dry period. *J. Dairy Sci.* 2018; 101 (1): 705–716. DOI: 10.3168/jds.2017-13258.
12. Семененко М. П., Зотова Т. А., Кузьмина Е. В., Лысенко А. А., Тяпкина Е. В. Теоретическое и экспериментальное обоснование применения инъекционных гепатопротекторов в профилактике заболеваний печени у коров. *Научный журнал КубГАУ.* 2017; 132: 335–345. DOI: 10.21515/1990-4665-132-027.
13. Алехин Ю. Н., Моргунова В. И., Каширина Л. Н., Суханова Ю. Е. Латентные нарушения метаболизма и риск развития патологии крови и печени в транзитный период у коров. *Ветеринарный фармакологический вестник.* 2019; 3 (8): 105–116. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.3.105.
14. Гринь В. А., Абрамов А. А., Семененко М. П., Кузьмина Е. В., Рогова Е. В., Рудь Е. Н. Клиническая эффективность гепатотропной терапии острого паренхиматозного гепатита коров. *Ветеринария Кубани.* 2020; 2: 6–8. DOI: 10.33861/2071-8020-2020-2-6-8.
15. Калужный И. И., Баринов Н. Д. Нарушение функций печени у коров голштинско-фризской породы. *Ветеринарный врач.* 2015; 2: 47–55. eLIBRARY ID: 23209889.
16. Bobe G., Young J. W., Beitz D. C. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2004; 87 (10): 3105–3124. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73446-3.
17. Бишева И. В., Гамалея Н. Б., Дмитриева И. Г., Надеждин А. В., Тетенова Е. Ю. Динамика показателей оксидантного стресса, системы антиоксидантной защиты, эндогенной интоксикации и биохимических маркеров поражения печени у больных алкоголизмом при лечении иммуномодулятором полиоксидонем. *Наркология.* 2007; 7 (67): 40–45. Режим доступа: http://www.narkotiki.ru/objects/narcology01/2007_07_06.pdf.
18. Сидельникова В. И., Черницкий А. Е., Рецкий М. И. Эндогенная интоксикация и воспаление: последовательность реакций и информативность маркеров (обзор). *Сельскохозяйственная биология.* 2015; 50 (2): 152–161. DOI: 10.15389/agrobiologia.2015.2.152rus.

19. Черницкий А. Е., Сафонов В. А. Эндогенная интоксикация и клинические проявления преэклампсии у беременных коров. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.* 2020; 1: 165–166. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2020.1.165.

20. Казюлин А. Н., Шестаков В. А., Бабина С. М. Роль эндотоксемии в патогенезе неалкогольного стеатогепатита. *Поликлиника.* 2014; 1: 18–21. eLIBRARY ID: 21631536.

21. Ватников Ю. А., Попова И. А. Клиническое значение интегральных индексов интоксикации при поражениях печени у собак. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.* 2019; 4: 77–80. eLIBRARY ID: 41575131.

22. Власов А. П., Трофимов В. А., Власова Т. И., Маркин О. В., Шейранов Н. С., Федосеева Т. А., Колесов А. В. Гепатический дистресс-синдром в хирургии: понятие, патогенез, основы профилактики и коррекции. *Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова.* 2021; (8): 20–27. DOI: 10.17116/hirurgia202108120.

23. Юрьева Э. А., Сухоруков В. С., Воздвиженская Е. С., Новикова Н. Н., Длин В. В. Эндогенная интоксикация в патогенезе нефропатий. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2015; 60 (3): 22–25. eLIBRARY ID: 23388207.

24. Габриэлян Н. И., Липатова В. И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей. *Лабораторное дело.* 1984; 3: 138–140.

REFERENCES

1. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Climate change: a threat to human wellbeing and health of the planet: Press release (28 February 2022). Available at: https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg2/downloads/press/IPCC_AR6_WGII_PressRelease-English.pdf.
2. Report on climate risks in the territory of the Russian Federation. Saint Petersburg; 2017. 106 p. Available at: <https://meteoinfo.ru/images/media/books-docs/klim-riski-2017.pdf>. (in Russ.)
3. Natural and climatic conditions and sociogeographical space of Russia. Ed. A. N. Zolotokrylin, V. V. Vinogradova, O. B. Glezer. Moscow: Institute of Geography, RAS; 2018. 154 p. DOI: 10.15356/ncsgsrus. (in Russ.)
4. Gårdmark A., Huss M. Individual variation and interactions explain food web responses to global warming. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 2020; 375 (1814):20190449. DOI: 10.1098/rstb.2019.0449.
5. Matthews T. K., Wilby R. L., Murphy C. Communicating the deadly consequences of global warming for human heat stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2017; 114 (15): 3861–3866. DOI: 10.1073/pnas.1617526114.
6. Rud E. N., Kuzminova E. V., Semenenko M. P., Abramov A. A., Rud N. A. Heat stress problem in dairy farming. *Veterinaria Kubani.* 2020; 3: 10–11. DOI: 10.33861/2071-8020-2020-3-10-11. (in Russ.)
7. Bernabucci U., Biffani S., Buggiotti L., Vitali A., Lacetera N., Nardone A. The effects of heat stress in Italian Holstein dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 2014; 97 (1): 471–486. DOI: 10.3168/jds.2013-6611.
8. Pinto S., Hoffmann G., Ammon C., Amon T. Critical THI thresholds based on the physiological parameters of lactating dairy cows. *J. Therm. Biol.* 2020; 88:102523. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2020.102523.
9. Hoffmann G., Herbut P., Pinto S., Heinicke J., Kuhla B., Amon T. Animal-related, non-invasive indicators for determining heat stress in dairy cows. *Biosystems Engineering.* 2020; 199: 83–96. DOI: 10.1016/j.biosystemseng.2019.10.017.
10. Dahl G. E., Skibiell A. L., Laporta J. In Utero Heat Stress Programs Reduced Performance and Health in Calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2019; 35 (2): 343–353. DOI: 10.1016/j.cvfa.2019.02.005.
11. Skibiell A. L., Zachut M., do Amaral B. C., Levin Y., Dahl G. E. Liver proteomic analysis of postpartum Holstein cows exposed to heat stress or cooling conditions during the dry period. *J. Dairy Sci.* 2018; 101 (1): 705–716. DOI: 10.3168/jds.2017-13258.
12. Semenenko M. P., Zotova T. A., Kuzminova E. V., Lysenko A. A., Tyapkina E. V. Theoretical and experimental basis for the use of injection hepatoprotectors in the prophylactics of liver diseases in cows. *Scientific Journal of KubSAU.* 2017; 132: 335–345. DOI: 10.21515/1990-4665-132-027. (in Russ.)
13. Alekhin Yu. N., Morgunova V. I., Kashirina L. N., Sukhanova Yu. E. Latent metabolic disorders and the risk of blood and liver pathology development during the transit period in cows. *Bulletin of Veterinary Pharmacology.* 2019; 3 (8): 105–116. DOI: 10.17238/issn2541-8203.2019.3.105.
14. Grin V. A., Abramov A. A., Semenenko M. P., Kuzminova E. V., Rogaleva E. V., Rud E. N. Clinical efficacy of betatiosolum-I in treatment of acute parenchymal hepatitis in cows. *Veterinaria Kubani.* 2020; 2: 6–8. DOI: 10.33861/2071-8020-2020-2-6-8. (in Russ.)
15. Kalyuzhny I. I., Barinov N. D. Liver disorders in cows of holstein-friesian breed. *Veterinarian.* 2015; 2: 47–55. eLIBRARY ID: 23209889. (in Russ.)
16. Bobe G., Young J. W., Beitz D. C. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2004; 87 (10): 3105–3124. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73446-3.
17. Bishve I. V., Gamaleya N. B., Dmitrieva I. G., Nadezhdin A. V., Teteno E. Yu. Dynamics of oxidative stress indicators, antioxidant system

zashchity, endogennoi intoksikatsii i biokhimicheskikh markerov porazheniya pecheni u bol'nykh alkogolizmom pri lechenii immunomodulyatorom polioksidoniem = Dynamics of oxidative stress parameters, antioxidant defense system, endogenous intoxication and biochemical markers of liver conditions in patients suffering from alcohol use disorder when treated with polyoxidonium immunomodulator. *Narcology*. 2007; 7 (67): 40–45. Available at: http://www.narkotiki.ru/objects/narcology01/2007_07_06.pdf. (in Russ.)

18. Sidel'nikova V. I., Chernitskiy A. E., Retsky M. I. Endogenous intoxication and inflammation: reaction sequence and informativity of the markers (review). *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2015; 50 (2): 152–161. DOI: 10.15389/agrobiology.2015.2.152eng.

19. Chernitskiy A. E., Safonov V. A. Endogenous intoxication and pre-eclampsia clinical manifestations in pregnant cows. *Issues of Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2020; 1: 165–166. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2020.1.165. (in Russ.)

20. Kazulin A. N., Shestakov V. A., Babina S. M. Rol' endotoksemii v patogeneze nealkogol'nogo steatogepatita = Role of endotoxemia in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *Poliklinika*. 2014; 1: 18–21. eLIBRARY ID: 21631536. (in Russ.)

21. Vatnikov Yu. A., Popova I. A. Clinical significance of integral intoxication indices for liver disease in dogs. *Issues of Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2019; 4: 77–80. eLIBRARY ID: 41575131. (in Russ.)

22. Vlasov A. P., Trofimov V. A., Vlasova T. I., Markin O. V., Sheyranov N. S., Fedoseeva T. A., Kolesov A. V. Hepatic distress syndrome in surgery: concept, pathogenesis, prevention and correction. *Pirogov Russian Journal of Surgery = Khirurgiya. Zhurnal im. N. I. Pirogova*. 2021; (8): 20–27. DOI: 10.17116/hirurgia202108120. (in Russ.)

23. Yurieva E. A., Sukhorukov V. S., Vozdvizhenskaya E. S., Novikova N. N., Dlin V. V. The endogenous intoxication in pathogenesis of nephropathies. *Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2015; 60 (3): 22–25. eLIBRARY ID: 23388207. (in Russ.)

24. Gabrielyan N. I., Lipatova V. I. Experience of using the indicator of average blood molecules for the diagnosis of nephrological diseases in children. *Laboratornoye delo*. 1984; 3: 138–140 (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 29.03.2022

Поступила после рецензирования / Revised 04.04.2022

Принята к публикации / Accepted 29.04.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Кузьмина Елена Васильевна, доктор ветеринарных наук, доцент, главный научный сотрудник отдела фармакологии Краснодарского НИВИ – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «КНЦЗВ», г. Краснодар, Россия.

Рудь Екатерина Николаевна, аспирант, младший научный сотрудник отдела фармакологии Краснодарского НИВИ – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «КНЦЗВ», г. Краснодар, Россия.

Семененко Марина Петровна, доктор ветеринарных наук, доцент, заведующий отделом фармакологии Краснодарского НИВИ – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «КНЦЗВ», г. Краснодар, Россия.

Абрамов Андрей Андреевич, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела фармакологии Краснодарского НИВИ – обособленного структурного подразделения ФГБНУ «КНЦЗВ», г. Краснодар, Россия.

Elena V. Kuzminova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Chief Researcher, Department for Pharmacology, Krasnodar RVI – Detached Unit FSBSI “KRAHV”, Krasnodar, Russia.

Ekaterina N. Rud, Post-Graduate Student, Junior Researcher, Department for Pharmacology, Krasnodar RVI – Detached Unit FSBSI “KRAHV”, Krasnodar, Russia.

Marina P. Semenenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Pharmacology, Krasnodar RVI – Detached Unit FSBSI “KRAHV”, Krasnodar, Russia.

Andrey A. Abramov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Department of Pharmacology, Krasnodar RVI – Detached Unit FSBSI “KRAHV”, Krasnodar, Russia.



Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни на территории Российской Федерации в 2020 г.

М. А. Кулагина¹, М. А. Волкова², Ир. А. Чвала³, О. С. Осипова⁴, П. С. Ярославцева⁵, Д. Б. Андрейчук⁶, И. А. Чвала⁷

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

¹ <https://orcid.org/0000-0001-6959-3965>, e-mail: kulagina@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-7674-639x>, e-mail: volkovama@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5846-1262>, e-mail: chvala_ia@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-3176-157x>, e-mail: osipova@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0003-0383-9912>, e-mail: yaroslavtseva@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-1681-5795>, e-mail: andreychuk@arriah.ru

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

РЕЗЮМЕ

В рамках реализации мероприятий Россельхознадзора с целью осуществления контроля за особо опасными болезнями и для своевременной выработки рекомендаций по профилактике и борьбе с ними в референтную лабораторию вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ» в течение 2020 г. было доставлено 36 986 проб сыворотки крови для исследования на наличие антител к вирусу гриппа птиц и 30 325 проб – на наличие антител к вирусу ньюкаслской болезни. Пробы были отобраны от домашних, диких и синантропных птиц из 60 субъектов Российской Федерации. В результате лабораторных исследований антитела к вирусу гриппа типа А были обнаружены у вакцинированных кур из двух птицеводческих предприятий Приморского края. При титровании проб сыворотки крови в реакции торможения гемагглютинации установили, что выявленные антитела соответствовали вакцинному антигену по подтипу гемагглютинина (А/Н9). Антитела к вирусу гриппа птиц подтипа Н9 были обнаружены в сыворотках крови от невакцинированных гусей с двух птицефабрик Курганской области и одной птицефабрики Республики Башкортостан. В личных подсобных хозяйствах граждан, где проводится плановая вакцинопрофилактика гриппа птиц А/Н5, низкий уровень иммунитета установлен в Республике Адыгея и Чеченской Республике (0 и 15% соответственно) и высокий уровень – в Ростовской области (74%). Высокий уровень антител к вирусу ньюкаслской болезни был установлен у взрослой птицы в промышленных хозяйствах закрытого типа, что связано с массовой вакцинацией против данного заболевания. У цыплят-бройлеров отмечали наличие поствакцинальных антител в среднем в 44% исследованных проб сыворотки крови. Выявленные антитела к вирусам ньюкаслской болезни и гриппу птиц подтипа Н5 среди диких и синантропных птиц свидетельствуют о циркуляции данных вирусов на территории Российской Федерации. Недостаточный уровень поствакцинальных антител указывает на сохранение риска возникновения эпизоотий среди домашних птиц промышленных птицеводческих предприятий и личных подсобных хозяйств.

Ключевые слова: мониторинг, грипп птиц, ньюкаслская болезнь, сыворотки крови, антитела, реакция торможения гемагглютинации, иммуноферментный анализ

Благодарности: Работа выполнена за счет бюджетных средств при проведении государственного эпизоотологического мониторинга.

Для цитирования: Кулагина М. А., Волкова М. А., Чвала Ир. А., Осипова О. С., Ярославцева П. С., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни на территории Российской Федерации в 2020 г. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 142–148. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-142-148.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Кулагина Мария Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: kulagina@arriah.ru.

Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2020

М. А. Kulagina¹, М. А. Volkova², Ir. A. Chvala³, O. S. Osipova⁴, P. S. Yaroslavtseva⁵, D. B. Andreychuk⁶, I. A. Chvala⁷

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

¹ <https://orcid.org/0000-0001-6959-3965>, e-mail: kulagina@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-7674-639x>, e-mail: volkovama@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5846-1262>, e-mail: chvala_ia@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-3176-157x>, e-mail: osipova@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0003-0383-9912>, e-mail: yaroslavtseva@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-1681-5795>, e-mail: andreychuk@arriah.ru⁷ <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, e-mail: chvala@arriah.ru

SUMMARY

Within the framework of the Rosselkhoznadzor measures aimed at control of highly dangerous diseases and development of timely recommendations for disease prevention and control, 36,986 serum samples to be tested for the presence of avian influenza virus antibodies and 30,325 serum samples to be tested for the presence of Newcastle disease virus antibodies were submitted to the FGBI "ARRIAH" Reference Laboratory for Avian Viral Diseases in 2020. The samples were collected from domestic, wild and synanthropic birds in 60 Subjects of the Russian Federation. As a result of the laboratory diagnosis, antibodies against type A influenza virus were found in vaccinated chickens from two poultry farms in the Primorsky Krai. Typing of sample sera using hemagglutination inhibition test showed that the detected antibodies were specific to the haemagglutinin subtype of the vaccine antigen (A/H9). Antibodies to the H9 subtype avian influenza virus were detected in sera of non-vaccinated geese from two poultry farms in the Kurgan Oblast and from one poultry farm in the Republic of Bashkortostan. As for the backyards where scheduled vaccination against avian influenza A/H5 is carried out, a low level of immunity was seen in the Republics of Adygea and Chechnya (0 and 15%, respectively), while a high immunity level was observed in the Rostov Oblast (74%). High seroprevalence of Newcastle disease virus was found in adult poultry in indoor industrial farms, which was associated with mass vaccination against the disease. In broiler chickens, post-vaccination antibodies were observed, on average, in 44% of the tested sera samples. The antibodies against Newcastle disease virus and avian influenza virus subtype H5 detected in wild and synanthropic birds indicate the circulation of these viruses in the Russian Federation. The insufficient level of post-vaccination antibodies suggests that the risk of epidemic among poultry in industrial poultry farms and backyards remains.

Keywords: monitoring, avian influenza, Newcastle disease, blood sera, antibodies, hemagglutination inhibition test, ELISA

Acknowledgements: The study was financed from the budget within the framework of the State epidemic monitoring.

For citation: Kulagina M. A., Volkova M. A., Chvala I. A., Osipova O. S., Yaroslavl'tseva P. S., Andreychuk D. B., Chvala I. A. Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2020. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 142–148. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-142-148.

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

For correspondence: Maria A. Kulagina, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: kulagina@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Грипп птиц и ньюкаслская болезнь – это наиболее эпизоотологически и экономически значимые болезни птиц, наносящие огромный урон птицеводству во всем мире [1–5].

Грипп птиц (ГП) вызывает вирус гриппа типа А, относящийся к семейству *Orthomyxoviridae*. Это сегментированный РНК-вирус, который классифицируется в соответствии с антигенным различием двух поверхностных гликопротеинов на 18 гемагглютинирующих (H1–H18) и 11 нейраминидазных (N1–N11) подтипов [6]. Вирус гриппа птиц является важным зоонозным патогеном, заражение которым вызывает гибель большого количества птиц и наносит серьезный ущерб промышленному птицеводству и личным подсобным хозяйствам [7–10]. Чаще всего серьезные заболевания вызывал вирус гриппа птиц, относящийся к подтипам H5 и H7.

В течение 2020 г. во Всемирную организацию здравоохранения животных поступила информация о вспышках высокопатогенного гриппа птиц (ВППП) из 36 стран мира. Наиболее часто заболевание регистрировали в Европе. Поступило 484 уведомления о вспышках среди домашних и 618 уведомлений о вспышках среди диких птиц. В подавляющем большинстве случаев заболевание было вызвано вирусом ВППП подтипа H5N8. Однако также были зарегистрированы вспышки, вызванные вирусом ВППП подтипов H5N1 и H5N5 среди домашних птиц, и вирусом ВППП подтипов H5N3 и H5N5 среди диких птиц. В Азии такого явного преобладания ВППП подтипа H5N8 не наблюдали. Было

зарегистрировано 228 вспышек среди домашних птиц, вызванных различными вариациями вируса ВППП подтипа H5 (N1, N2, N5, N6, N8), и 68 вспышек среди диких птиц, вызванных вирусом ВППП подтипов H5N1, H5N6 и H5N8. Также вспышки ВППП подтипа H5N8 среди домашних птиц были зафиксированы в ЮАР. Из Австралии и США поступили уведомления о регистрации заболеваний ВППП подтипа H7 среди домашних птиц [11].

Высокопатогенный вирус гриппа птиц подтипа H5N8 впервые был выявлен у промышленной птицы в Китае в 2010 г. [12]. В июле 2020 г. на территории Российской Федерации также была зарегистрирована вспышка среди диких птиц, вызванная вирусом ВППП подтипа H5N8. С августа в России начали регистрировать заболевание ВППП подтипа H5N8 среди домашних птиц как на птицефабриках, так и в личных подсобных хозяйствах. Наиболее часто уведомления о вспышках поступали из субъектов РФ, граничащих с Казахстаном (Омская, Тюменская, Курганская и Челябинская области) [13]. Кроме того, отдельные вспышки регистрировали в Приволжском, Южном, Северо-Кавказском и Центральном федеральных округах.

Ньюкаслская болезнь (НБ) – это вирусное заболевание птиц, характеризующееся пневмонией, энцефалитом и множественными точечными геморрагическими поражениями внутренних органов. Возбудителем является РНК-содержащий вирус из семейства *Paramyxoviridae*. Вирус НБ потенциально заразен для большинства видов птиц, а среди восприимчивых домашних птиц (главным образом куриных) часто

приводит к летальному исходу [14]. Было признано по меньшей мере четыре панзоотии [15], отрицательно повлиявшие не только на экономику в целом, но и на благосостояние людей из-за сокращения поставок продовольствия [16].

По данным ветеринарных служб субъектов РФ, в течение 2020 г. вспышки НБ были зарегистрированы в Республике Ингушетия, во Владимирской и Курской областях (11 неблагополучных пунктов) [17].

Необходимость осуществления мониторинговых исследований по гриппу птиц и ньюкаслской болезни определяется опасностью заноса новых штаммов вирусов на территорию Российской Федерации, угрозой внедрения патогена в промышленные птицеводческие предприятия, возникновением эпизоотий, причиняющих огромный экономический ущерб [18].

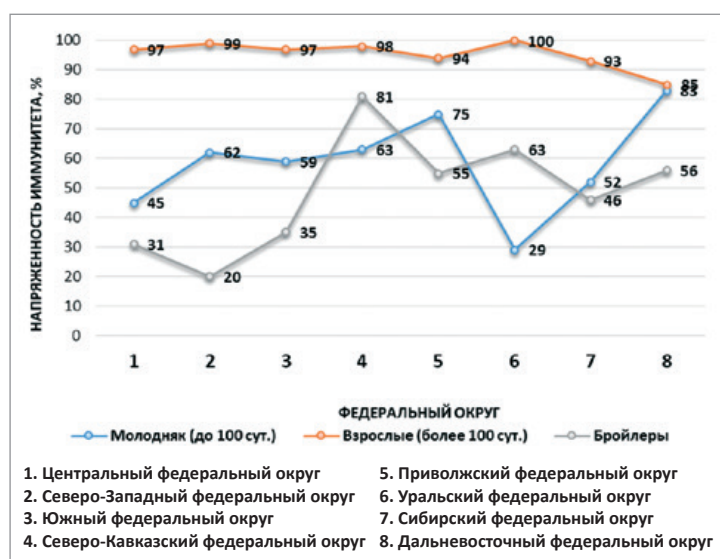


Рис. 1. Напряженность поствакцинального иммунитета к вирусу НБ у кур промышленных птицефабрик

Fig. 1. Intensity of post-vaccination immunity to the ND virus in chickens from industrial poultry farms

Целью работы было проведение серомониторинговых исследований среди домашних, диких и синантропных птиц в рамках реализации мероприятий Россельхознадзора для осуществления контроля за особо опасными болезнями и своевременной выработки рекомендаций по профилактике и борьбе с гриппом птиц и ньюкаслской болезнью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемые образцы. В работе использовали сыворотки крови птиц, предоставленные для исследования в ФГБУ «ВНИИЗЖ» территориальными управления Россельхознадзора в 2020 г.

Коммерческие наборы и реагенты:

- «Набор для выявления антител к вирусу гриппа птиц иммуноферментным методом при тестировании сывороток в одном разведении» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»);
- «Набор для определения антител к вирусу ньюкаслской болезни иммуноферментным методом при тестировании сывороток в одном разведении» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»);
- «Набор для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H5 в реакции торможения гемагглютинации» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»);
- «Набор для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H9 в реакции торможения гемагглютинации» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»);
- «Набор для выявления антител к вирусу ньюкаслской болезни в реакции торможения гемагглютинации» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»);
- референтные антигены вируса ГП подтипов H5, H7 и H9 и соответствующие положительные сыворотки производства IZSve (Италия);
- референтные антигены вируса ГП подтипов H5, H7 и H9 и соответствующие положительные сыворотки производства GD (Нидерланды).

Все исследования методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов проводили согласно инструкции производителя. Реакцию торможения гемагглютинации (РТГА) с использованием референтных компонентов проводили

Таблица 1

Результаты исследования сывороток крови кур из промышленных птицеводств на наличие антител к вирусу НБ в ИФА и РТГА

Table 1

Detection of antibodies to NDV in chicken sera submitted from industrial poultry farms, using ELISA and HI test

Федеральный округ	Родительское стадо, возраст до 100 сут		Родительское стадо, возраст более 100 сут		Цыплята-бройлеры	
	кол-во пол. / общее кол-во проб	кол-во п/ф	кол-во пол. / общее кол-во проб	кол-во п/ф	кол-во пол. / общее кол-во проб	кол-во п/ф
Центральный	392/868	11	4226/4365	29	288/935	7
Северо-Западный	574/924	9	530/531	8	233/1165	3
Южный	241/410	6	1649/1696	11	219/630	3
Северо-Кавказский	283/450	3	196/200	1	260/320	4
Приволжский	509/675	7	3114/3314	35	1272/2302	18
Уральский	39/136	2	382/382	9	110/174	7
Сибирский	193/370	7	1097/1185	18	243/527	7
Дальневосточный	208/250	3	882/1035	7	197/350	4

п/ф – птицефабрика (p/f – poultry farm); пол. – положительные пробы (pos. – positive samples).

в соответствии с «Методическими указаниями по идентификации вирусов гриппа птиц и ньюкаслской болезни в реакции торможения гемагглютинации»¹.

Обработка исследуемых проб сыворотки крови. Для удаления термолабильных ингибиторов перед постановкой все пробы инактивировали в водяной бане в течение 30 мин при 56 °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Провели исследование 30 325 проб сыворотки крови от домашних, диких и синантропных птиц на наличие антител к вирусу НВ в соответствии с приказом Россельхознадзора от 25.12.2019 № 1423 «О лабораторных исследованиях в рамках реализации мероприятий Россельхознадзора для обеспечения выполнения требований Соглашения ВТО по СФС при вступлении России в ВТО на 2020 год». Пробы были доставлены из 60 субъектов Российской Федерации. Сыворотки крови кур исследовали методом ИФА и в РТГА. Исследование проб сыворотки крови других видов домашних, диких и синантропных птиц осуществляли в РТГА.

От молодняка кур в возрасте до 100 сут было исследовано 4083 пробы сыворотки крови из 24 субъектов РФ. Минимальный процент серопозитивной птицы среди молодняка промышленного и родительского стада был в Уральском, а максимальный – в Дальневосточном федеральных округах. В среднем по Российской Федерации напряженность иммунитета для данной группы была невысокой и составила 60%. Такой низкий процент может объясняться тем, что забор крови осуществляли у птиц различных возрастов (1–100 сут), а также тем, что применяемые на птицефабриках схемы вакцинации не всегда обеспечивают достаточный уровень антител к моменту отбора проб.

От взрослой промышленной птицы было исследовано 12 708 проб сыворотки крови из 44 субъектов РФ. Максимальный процент серопозитивной птицы наблюдался в Уральском (100%), а минимальный – в Дальневосточном (85%) федеральных округах. По результатам исследования сывороток крови от взрослой промышленной птицы во всех федеральных округах РФ выявлен стойкий и напряженный иммунитет (в среднем 95%).

От цыплят-бройлеров было исследовано 6403 пробы сыворотки из 28 субъектов РФ. Минимальный процент серопозитивной птицы среди цыплят-бройлеров был в Северо-Западном, а максимальный – в Северо-Кавказском федеральных округах. В среднем по Российской Федерации напряженность иммунитета для данной группы составила 44%. Возможно, такой низкий средний процент серопозитивной птицы среди цыплят-бройлеров связан с применением на птицефабриках схем вакцинации, не позволяющих достичь достаточного уровня антител к моменту отбора проб крови для получения сывороток.

Результаты исследования представлены на рисунке 1 и в таблице 1.

Было исследовано 1086 проб сыворотки крови индеек, гусей и уток, полученных из промышленных птицеводств Северо-Западного, Северо-Кавказского, Приволжского, Уральского и Сибирского федеральных округов (рис. 2). Напряженность иммунного ответа

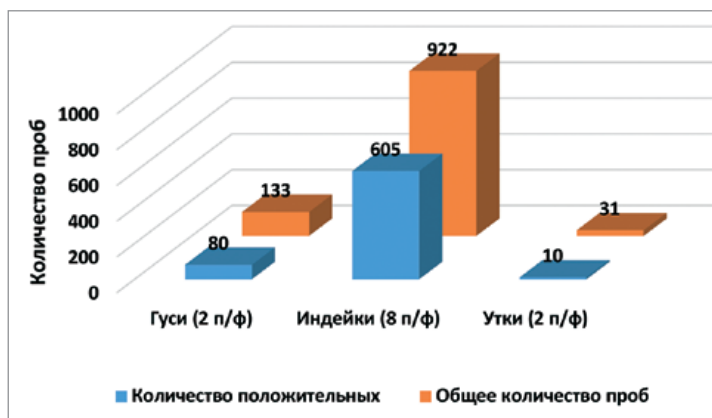


Рис. 2. Результаты исследования проб сывороток крови индеек, гусей и уток промышленных птицефабрик на наличие антител к вирусу НВ

Fig. 2. Detection of antibodies against NDV in turkey, goose and duck sera submitted from industrial poultry farms

Таблица 2

Результаты исследования сывороток крови домашних птиц из ЛПХ и КФХ на наличие антител к вирусу НВ

Table 2

Detection of antibodies to NDV in poultry sera submitted from backyards and small-scale farms

Федеральный округ	Количество положительных / общее количество проб			
	куры	гуси	индейки	перепела
Центральный	191/560	0/10	—	—
Северо-Западный	28/119	—	—	—
Южный	471/1588	0/12	3/15	0/10
Северо-Кавказский	674/959	—	50/50	—
Приволжский	104/203	6/45	12/25	1/5
Уральский	24/140	0/39	—	—
Сибирский	82/336	3/11	1/3	—
Дальневосточный	583/1116	0/4	225/292	—

«—» — пробы на исследования не поступали (no samples were submitted for testing).



Рис. 3. Результаты исследования проб сывороток крови кур промышленных птицефабрик на наличие антител к вирусу ГП

Fig. 3. Detection of antibodies to AIV in chicken sera submitted from industrial poultry farms

¹ МУ 27-16 Методические указания по идентификации вирусов гриппа птиц и ньюкаслской болезни в реакции торможения гемагглютинации: утв. Россельхознадзором 06.06.2016. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ». 2016. 14 с.

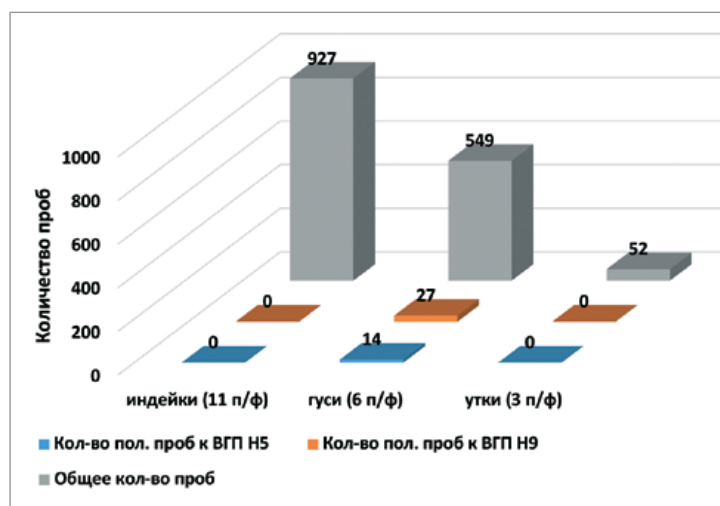


Рис. 4. Результаты исследования проб сывороток крови индеек, гусей и уток промышленных птицефабрик на наличие антител к вирусу ГП подтипов H5 и H9

Fig. 4. Detection of antibodies to H5 and H9 AIV in turkey, goose and duck sera submitted from industrial poultry farms

более 80% среди индеек наблюдали в трех птицеводческих хозяйствах, расположенных в Удмуртской Республике (100%), Оренбургской (84%) и Тюменской (83%) областях. Процент серопозитивной птицы из Ставропольского края, Республики Мордовия, Ленинградской, Самарской и Омской областей был низким и составлял от 0 до 45%.

Низкие средние проценты серопозитивной птицы среди гусей (60%) и уток (32%) можно объяснить тем, что вакцинация против вируса H5 проводится не во всех птицеводческих хозяйствах (по данным сопроводительной документации).

В 2020 г. в рамках проведения мониторинговых исследований для выявления антител к вирусу H5

Таблица 3
Результаты исследования сывороток крови домашних птиц из ЛПХ и КФХ на наличие антител к вирусу ГП подтипа H5

Table 3
Detection of antibodies against H5 AIV in poultry sera submitted from backyards and small-scale farms

Федеральный округ	Количество положительных / общее количество проб	
	куры	перепела
Центральный	0/2334	–
Северо-Западный	0/119	–
Южный	537/2122	3/20
Северо-Кавказский	63/959	–
Приволжский	0/245	0/5
Уральский	0/140	–
Сибирский	0/336	–
Дальневосточный	0/1642	–

«–» – пробы на исследование не поступали
(no sera were submitted for testing).

из личных подсобных хозяйств (ЛПХ) и крестьянских (фермерских) хозяйств (КФХ) было доставлено 5658 проб сыворотки крови птиц: кур, гусей, уток, индеек, перепелов и цесарок. Антитела к вирусу H5 были обнаружены только в крови кур, гусей, перепелов и индеек (табл. 2).

В этом же году на наличие антител к вирусу ГП было исследовано 26 357 проб сыворотки крови кур, доставленных с 180 промышленных птицефабрик Российской Федерации. Выявлено 4 положительные пробы из Приморского края. Как показывает имеющаяся в сопроводительных документах информация, образование антител произошло после иммунизации вакциной

Таблица 4
Результаты исследования сывороток крови диких и синантропных птиц на наличие антител к вирусу ГП и H5 в РТГА

Table 4
Detection of antibodies against AI and ND viruses in sera of wild and synanthropic birds using HI test

Федеральный округ	Вид птицы	Количество положительных / общее количество проб			
		H5	ГП (H5)	ГП (H7)	ГП (H9)
Центральный	синантропные птицы	0/10	0/20	0/20	0/20
	дикие птицы	0/25	0/25	0/25	0/25
Северо-Западный	дикие утки	5/120	5/120	0/120	0/120
	вороны	4/4	0/4	0/4	0/4
	чайки	0/16	0/16	0/16	0/16
	дикие гуси	0/4	0/4	0/4	0/4
	голуби	10/10	0/10	0/10	0/10
Приволжский	голуби	66/80	0/80	0/80	0/80
Сибирский	голуби	35/85	0/85	0/85	0/85
	декор. и дикие птицы	0/25	0/25	0/25	0/25
	крикаш	0/3	0/3	0/3	0/3
	дикие утки	0/5	0/5	0/5	0/5

против ГП подтипа Н9. В остальных пробах антитела к вирусу гриппа птиц не обнаружены (рис. 3).

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» поступило 1528 проб сыворотки крови уток, гусей и индеек из Северо-Западного, Северо-Кавказского, Приволжского, Уральского и Сибирского федеральных округов. Все пробы исследовали в РТГА на наличие антител к вирусу ГП подтипов Н5, Н7 и Н9. Антитела к вирусу ГП подтипа Н7 во всех анализируемых образцах обнаружены не были. В сыворотках крови индеек и уток антител к вирусу ГП подтипов Н5 и Н9 также не выявили.

Антитела к вирусу ГП подтипа Н5 были обнаружены в сыворотках крови гусей, полученных с одной птицефабрики, находящейся в Курганской области. По данным, имеющимся в сопроводительной документации, птица была иммунизирована вакциной против ГП подтипа Н5. Антитела к вирусу ГП подтипа Н9 были обнаружены в сыворотках крови гусей, доставленных с двух птицефабрик Курганской области и одной – из Республики Башкортостан. О вакцинации против вируса ГП подтипа Н9 на территории данных птицефабрик в сопроводительной документации указано не было (рис. 4).

В 2020 г. для проведения мониторинговых исследований было доставлено 8704 пробы сыворотки крови птиц из ЛПХ и КФХ для выявления антител к вирусу ГП подтипа Н5. Сыворотки крови были получены от кур, гусей, уток, индеек, перепелов и цесарок (табл. 3). Антитела к вирусу ГП были обнаружены только в крови кур и перепелов. По данным сопроводительной документации, вакцинацию кур против вируса ГП подтипа Н5 проводили в Республике Адыгея, Ростовской области и Чеченской Республике (напряженность иммунитета в данных субъектах РФ составила 0; 74 и 15% соответственно). Вакцинацию перепелов проводили только в Астраханской области (процент серопозитивных сывороток составил 30%). В сыворотках крови от невакцинированных птиц антител к вирусу ГП подтипа Н5 обнаружено не было.

Многие виды диких и синантропных птиц являются природными резервуарами возбудителей ГП и НБ, поэтому мониторинг эпизоотической ситуации среди птиц данной группы помогает прогнозировать и контролировать возникновение заболеваний.

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» в 2020 г. для исследования на грипп птиц поступило 397 проб сыворотки крови от диких и синантропных птиц из девяти субъектов РФ. Все сыворотки анализировали на наличие антител к вирусу ГП подтипов Н5, Н7, Н9. В результате исследований были выявлены антитела к вирусу ГП подтипа Н5 у пяти диких уток из Вологодской области. Антитела к вирусу ГП подтипов Н7 и Н9 обнаружены не были.

На наличие антител к вирусу НБ было исследовано 387 проб сыворотки крови от диких и синантропных птиц. Антитела к вирусу НБ были обнаружены в 111 сыворотках крови от голубей, доставленных из Мурманской области, Красноярского края и Республики Мордовия. Также были выявлены антитела к вирусу НБ в сыворотках крови от диких уток и ворон из Вологодской области (табл. 4). Наличие циркуляции возбудителя НБ среди синантропных птиц, большинство проб от которых было отобрано вблизи от птицеводческих хозяйств, свидетельствует о высоком риске заноса инфекции в стада сельскохозяйственных птиц.

На рисунке 5 представлено расположение субъектов РФ, на территории которых было выявлено наличие

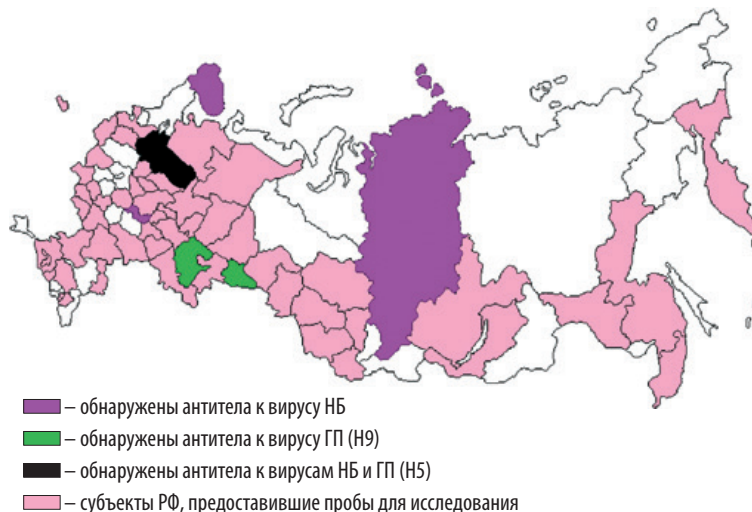


Рис. 5. Субъекты РФ, на территории которых было выявлено наличие антител к вирусам ГП и НБ у невакцинированных промышленных, диких и синантропных птиц в 2020 г.

Fig. 5. RF Subjects where antibodies against AI and ND viruses were detected in non-vaccinated commercial, wild and synanthropic birds in 2020

антител к вирусам ГП и НБ в сыворотках крови, полученных от невакцинированных промышленных, диких и синантропных птиц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного в 2020 г. мониторинга можно сделать вывод о циркуляции вирусов гриппа А/Н5 и ньюкаслской болезни среди диких и синантропных птиц, а также вируса гриппа А/Н9 среди домашних птиц на территории Российской Федерации. В дальнейшем возможно возникновение вспышек ньюкаслской болезни и высокопатогенного гриппа среди птиц в дикой популяции, что также обуславливает высокий риск возникновения очага инфекции указанных выше заболеваний в птицеводческих хозяйствах с низким уровнем биобезопасности. Поэтому очень важно проведение своевременных мониторинговых исследований для выявления заносов возбудителя и распространения высокопатогенного гриппа и ньюкаслской болезни в популяциях диких и синантропных птиц, а также оценки уровня поствакцинальных антител среди домашних птиц с целью проведения адекватных противоэпизоотических и профилактических мероприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 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.
- Alexander D. J., Aldous E. W., Fuller C. M. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian Pathol.* 2012; 41 (4): 329–335. DOI: 10.1080/03079457.2012.697991.
- Alexander D. J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. Sci. Tech.* 2000; 19 (2): 443–462. DOI: 10.20506/rst.19.2.1231.
- Музыка Д. В., Стегний А. Б. Эпизоотологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни среди диких птиц Северо-Западного Причерноморья в 2004–2009 годах. *Ветеринария и кормление*. 2010; (6): 18–19. eLIBRARY ID: 20420207.
- OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2021. Режим доступа: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access>.
- Tong S., Zhu X., Li Y., Shi M., Zhang J., Bourgeois M., et al. New World bats harbor diverse influenza A. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (10): e1003657. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003657.

7. Bi Y., Zhang Z., Liu W., Yin Y., Hong J., Li X., et al. Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus struck migratory birds in China in 2015. *Sci. Rep.* 2015; 5:12986. DOI: 10.1038/srep12986.
8. Haider N., Sturm-Ramirez K., Khan S. U., Rahman M. Z., Sarkar S., Poh M. K., et al. Unusually high mortality in waterfowl caused by highly pathogenic avian influenza A(H5N1) in Bangladesh. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (1): 144–156. DOI: 10.1111/tbed.12354.
9. Monne I., Meseko C., Joannis T., Shittu I., Ahmed M., Tassoni L., et al. Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus in poultry, Nigeria, 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21 (7): 1275–1277. DOI: 10.3201/eid2107.150421.
10. Nguyen D. C., Uyeki T. M., Jadhao S., Maines T., Shaw M., Matsuo-ka Y., et al. Isolation and characterization of avian influenza viruses, including highly pathogenic H5N1, from poultry in live bird markets in Hanoi, Vietnam, in 2001. *J. Virol.* 2005; 79 (7): 4201–4212. DOI: 10.1128/JVI.79.7.4201-4212.2005.
11. OIE. Avian Influenza. Режим доступа: <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2020>.
12. 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.
13. Вспышки гриппа птиц на территории РФ в 2020 г. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/flu/2020/09-14/02.pdf>.
14. Alexander D. J. Newcastle Disease: Methods of Spread. In: *Newcastle Disease*. Eds. D. J. Alexander. *Developments in Veterinary Virology*. Vol. 8. Boston: Springer; 1988; 256–272. DOI: 10.1007/978-1-4613-1759-3_14.
15. Miller P. J., Koch G. Newcastle Disease. In: *Diseases of Poultry*. Ed. D. E. Swayne, J. R. Glisson, L. R. McDougald, L. K. Nolan, D. L. Suarez. 13th ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2013; 89–138.
16. Alders R. G. Making Newcastle disease vaccines available at village level. *Vet. Rec.* 2014; 174 (20): 502–503. DOI: 10.1136/vr.g3209.
17. Вспышки болезни Ньюкасла на территории РФ в 2020 г. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/2020/maps/10-30/bn.pdf>.
18. Волкова М. А., Чвала И. А., Осипова О. С., Кулагина М. А., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни в Российской Федерации в 2019 году. *Ветеринария сегодня*. 2020; (2): 76–82. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-76-82.
19. 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.
20. Alexander D. J., Aldous E. W., Fuller C. M. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian Pathol.* 2012; 41 (4): 329–335. DOI: 10.1080/03079457.2012.697991.
21. Alexander D. J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. Sci. Tech.* 2000; 19 (2): 443–462. DOI: 10.20506/rst.19.2.1231.
22. Muzyka D. V., Stegnyy A. B. Epizootic monitoring of avian influenza and Newcastle disease in wild birds of the North-Western Region of the Black Sea in 2004–2009. *Veterinaria I kormlenie*. 2010; (6): 18–19. eLIBRARY ID: 20420207. (in Russ.)
23. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2021. Available at: <https://www.oie.int/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access>.
24. Tong S., Zhu X., Li Y., Shi M., Zhang J., Bourgeois M., et al. New World bats harbor diverse influenza A. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (10): e1003657. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003657.
25. Bi Y., Zhang Z., Liu W., Yin Y., Hong J., Li X., et al. Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus struck migratory birds in China in 2015. *Sci. Rep.* 2015; 5:12986. DOI: 10.1038/srep12986.
26. Haider N., Sturm-Ramirez K., Khan S. U., Rahman M. Z., Sarkar S., Poh M. K., et al. Unusually high mortality in waterfowl caused by highly pathogenic avian influenza A(H5N1) in Bangladesh. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (1): 144–156. DOI: 10.1111/tbed.12354.
27. Monne I., Meseko C., Joannis T., Shittu I., Ahmed M., Tassoni L., et al. Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus in poultry, Nigeria, 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2015; 21 (7): 1275–1277. DOI: 10.3201/eid2107.150421.
28. Nguyen D. C., Uyeki T. M., Jadhao S., Maines T., Shaw M., Matsuo-ka Y., et al. Isolation and characterization of avian influenza viruses, including highly pathogenic H5N1, from poultry in live bird markets in Hanoi, Vietnam, in 2001. *J. Virol.* 2005; 79 (7): 4201–4212. DOI: 10.1128/JVI.79.7.4201-4212.2005.
29. OIE. Avian Influenza. Available at: <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2020>.
30. 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.
31. Vспышки гриппа птиц на территории РФ в 2020 г. = Avian influenza outbreaks in the Russian Federation in 2020. Available at: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/flu/2020/09-14/02.pdf>. (in Russ.)
32. Alexander D. J. Newcastle Disease: Methods of Spread. In: *Newcastle Disease*. Eds. D. J. Alexander. *Developments in Veterinary Virology*. Vol. 8. Boston: Springer; 1988; 256–272. DOI: 10.1007/978-1-4613-1759-3_14.
33. Miller P. J., Koch G. Newcastle Disease. In: *Diseases of Poultry*. Ed. D. E. Swayne, J. R. Glisson, L. R. McDougald, L. K. Nolan, D. L. Suarez. 13th ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2013; 89–138.
34. Alders R. G. Making Newcastle disease vaccines available at village level. *Vet. Rec.* 2014; 174 (20): 502–503. DOI: 10.1136/vr.g3209.
35. Vспышки болезни Ньюкасла на территории РФ в 2020 г. = Newcastle disease outbreaks in the Russian Federation in 2020. Available at: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/2020/maps/10-30/bn.pdf>. (in Russ.)
36. Волкова М. А., Чвала И. А., Осипова О. С., Кулагина М. А., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни в Российской Федерации в 2019 году. *Veterinary Science Today*. 2020; (2): 76–82. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-76-82.

Поступила в редакцию / Received 19.01.2022

Поступила после рецензирования / Revised 09.03.2022

Принята к публикации / Accepted 26.04.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

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

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

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

Ярославцева Полина Сергеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

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

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

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

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

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

Polina S. Yaroslavtseva, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

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

Определение репродуктивных свойств вируса классической чумы свиней вирулентных и вакцинных штаммов в первичных и перевиваемых культурах клеток

И. С. Колбин¹, А. С. Иголкин², В. Л. Гаврилова³, О. С. Пузанкова⁴, Е. В. Аронова⁵, А. А. Елсукова⁶, Н. Н. Власова⁷

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

¹ <https://orcid.org/0000-0003-4692-1297>, e-mail: kolbin@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5843-2779>, e-mail: gavrilova_vl@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-1584-3169>, e-mail: puzankova@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-2072-6701>, e-mail: aronova@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0003-4524-4941>, e-mail: elsukova@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0001-8707-7710>, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Классическая чума свиней относится к особо опасным болезням этого вида животных, вспышки которой ежегодно регистрируются в ряде стран. Несмотря на наличие средств специфической профилактики, опасность распространения заболевания в отдельной стране или во всем мире в целом сохраняется до сих пор. В связи с этим применение высокочувствительных методов ранней диагностики инфекции и определение наличия циркуляции вируса в природе являются необходимыми при надзоре и эрадикации данной болезни. Разработка новейших методов диагностики опирается на хорошо разработанную систему культивирования вируса, поэтому повышение уровня репродукции вируса классической чумы свиней, изучение возможности использования новых, лишенных эндогенной контаминации линий клеток до сих пор остается весьма актуальной задачей. Данная работа посвящена изучению чувствительности первичных и перевиваемых культур клеток к вирусу классической чумы свиней (вакцинных штаммов и ряда полевых изолятов, выделенных на территории России) с детекцией динамики его репродукции при помощи полимеразной цепной реакции с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Также проведен анализ интенсивности репродукции вируса в первичных и перевиваемых культурах клеток, при этом установлено, что вирус классической чумы свиней не обладает способностью к размножению в некоторых из них без предварительной адаптации. Показано, что для накопления вируса как полевых изолятов, так и вакцинных штаммов целесообразно применять первичные культуры клеток тестикул свиньи и тестикул ягнят при добавлении в питательную среду 10%-й нормальной серонегативной к вирусу классической чумы свиней сыворотки свиньи, а не фетальной бычьей сыворотки. Определены параметры культивирования и оптимальный состав поддерживающих питательных сред, использование которых способствует увеличению накопления вируса в 4–10 раз как в первичных, так и в перевиваемых культурах клеток.

Ключевые слова: классическая чума свиней, изоляты вируса классической чумы свиней, вакцинные штаммы, культуры клеток, обратнo-транскриптная полимеразная цепная реакция с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени, реакция прямой иммунофлуоресценции

Благодарности: Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам сектора культур клеток отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ»: ведущему научному сотруднику Е. Г. Кузнецовой, ведущему технолог Е. А. Трофимовой и ведущему ветеринарному врачу Н. А. Колчанову. Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета в рамках проведения научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Колбин И. С., Иголкин А. С., Гаврилова В. Л., Пузанкова О. С., Аронова Е. В., Елсукова А. А., Власова Н. Н. Определение репродуктивных свойств вируса классической чумы свиней вирулентных и вакцинных штаммов в первичных и перевиваемых культурах клеток. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 149–155. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-149-155.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Колбин Иван Сергеевич, аспирант, ведущий биолог референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: kolbin@arriah.ru.

Determination of reproductive properties of virulent and vaccine classical swine fever virus strains in primary and continuous cell cultures

I. S. Kolbin¹, A. S. Igolkin², V. L. Gavrilova³, O. S. Puzankova⁴, Ye. V. Aronova⁵, A. A. Yelsukova⁶, N. N. Vlasova⁷

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

¹ <https://orcid.org/0000-0003-4692-1297>, e-mail: kolbin@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>, e-mail: igolkin_as@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5843-2779>, e-mail: gavrilo_vl@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-1584-3169>, e-mail: puzankova@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-2072-6701>, e-mail: aronova@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0003-4524-4941>, e-mail: elsukova@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0001-8707-7710>, e-mail: vlasova_nn@arriah.ru

SUMMARY

Classical swine fever (CSF) is a highly dangerous porcine disease. CSF outbreaks are annually notified in several countries. Despite the availability of specific prevention tools, the disease spread risk still persists both at country level and at world level. Hence, the disease surveillance and eradication require highly sensitive methods for early diagnosis of the infection and for tests for the virus circulation in the environment. Development of up-to-date diagnostic methods is based on well-established virus cultivation system; therefore, CSF virus reproduction enhancement, tests of new cell lines without endogenous contamination for their possible use are still of current importance. The said study was aimed at testing of primary and continuous cell cultures for their susceptibility to classical swine fever virus (vaccine virus strains and some field virus isolates recovered in the Russian Federation) and detection of the virus reproduction dynamics with real-time polymerase chain reaction with fluorescent hybridization probes used for detection. Virus replication intensity in primary and continuous cell cultures was also analyzed. The CSF virus was found incapable of replicating in some cell cultures without its preliminary adaptation. Primary porcine and lamb testicle cell cultures grown in minimal essential medium supplemented with 10% normal CSFV-negative porcine serum instead of fetal bovine serum were shown to be useful for the virus accumulation, both for vaccine strains and field isolates. Cultivation parameters and optimal minimal essential medium composition contributing to the 4–10-fold increase in the virus accumulation both in primary and continuous cell cultures were determined.

Keywords: classical swine fever (CSF), CSF virus isolates, vaccine virus strains, cell cultures, real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) with fluorescent hybridization probes used for detection, direct immunofluorescence test

Acknowledgements: The authors express their deep gratitude to the staff-members of the Cell Culture Unit of the FGBI "ARRIAH" Innovation Department: Ye. G. Kuznetsova (Leading Researcher), Ye. A. Trofimova (Leading Technologist) and N. A. Kolchanov (Leading Veterinarian). The study was funded by the federal budget as a part of the research activities "Animal Health and Welfare".

For citation: Kolbin I. S., Igolkin A. S., Gavrilo V. L., Puzankova O. S., Aronova Ye. V., Yelsukova A. A., Vlasova N. N. Determination of reproductive properties of virulent and vaccine classical swine fever virus strains in primary and continuous cell cultures. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 149–155. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-149-155.

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

For correspondence: Ivan S. Kolbin, Post-Graduate Student, Leading Biologist, Reference Laboratory for African Swine Fever FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: kolbin@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Классическая чума свиней (КЧС) – высококонтагиозное инфекционное заболевание, характеризующееся лихорадкой, поражением кровеносной системы, респираторного и желудочно-кишечного трактов, сопровождающееся высокой заболеваемостью, а также летальностью домашних свиней и диких кабанов [1].

Согласно официальным данным Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ) за 2021 г., только 38 стран на разных континентах являются благополучными по КЧС, и еще 3 страны имеют отдельные зоны благополучия. Сложная ситуация по КЧС складывается в азиатских и южноамериканских странах.

В неблагополучных странах КЧС наносит свиноводству большой экономический ущерб, обусловленный снижением продуктивности животных или их гибелью, а также необходимостью реализовывать принципы стемпинг аута при ликвидации очагов болезни. Для успешного развития свиноводства необходимо постоянно совершенствовать имеющиеся диагностические методы исследований, научно обоснованные подходы к борьбе и профилактике этой особо опасной болезни [2–3].

Современные диагностические методы являются необходимым инструментарием для выявления наличия возбудителя и изучения особенностей развития инфек-

ционного процесса на неблагополучной территории. Анализ арсенала применяемых в настоящее время методов позволяет разделить их как по выявлению целевого объекта (выявление вируса, детекция антигена, выявление антител и анализ генома), так и по назначению использования теста (индикация, идентификация, мониторинг, ретроспективная диагностика и т. д.) [3].

К основным методам выявления вируса КЧС и его антигена относят вирусовыделение возбудителя в культурах клеток с последующей детекцией в реакции прямой иммунофлуоресценции (РПИФ), иммуногистохимический анализ (ИГХ), полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и, конечно, биопробу на восприимчивых животных, а для ретроспективной диагностики применяют реакцию непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) и иммуноферментный анализ (ИФА) для выявления вирусспецифических антител [4–5].

При подозрении на КЧС окончательный диагноз устанавливается только на основании результатов лабораторных методов диагностики при условии подтверждения наличия возбудителя/генома или специфических антител в случае, если животное не было вакцинировано против КЧС [6].

С целью преодоления порога чувствительности используемого диагностического метода при определении наличия возбудителя в пробе, как правило для

увеличения его количества, возникает необходимость проведения двух-трех последовательных пассажей в различных чувствительных к вирусу КЧС первичных или перевиваемых культурах клеток [7].

Поскольку вирус КЧС не оказывает деструктивного воздействия на клетки, то для оперативного выявления наличия его репродукции в культуре применяют дополнительный метод детекции, например, такой как обратнo-транскриптазная полимеразная цепная реакция в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ) [8].

В научно-исследовательских лабораториях для диагностики и изучения биологических свойств изолятов вируса КЧС часто используют биопробу на восприимчивых животных [9].

Для определения наличия жизнеспособного вируса, как правило, используют метод вирусыведения, суть которого заключается в инокуляции материала, потенциально содержащего вирус в восприимчивую культуру клеток. Поскольку вирус КЧС обладает способностью реплицироваться без предварительной адаптации в перевиваемой линии клеток почки поросят (РК-15), лейкоцитах периферической крови свиньи, спленоцитах свиньи (СС) и клетках костного мозга свиньи (КМС), вирусыведение этого инфекционного агента в большинстве случаев проводится на одной из этих культур [10].

Неспособность вируса КЧС вызывать цитопатический эффект при репродукции в различных клеточных линиях приводит к необходимости использования дополнительного детектирующего метода для выявления наличия репродукции вируса, например РПИФ или ОТ-ПЦР.

Накопление вируса КЧС для диагностических целей (наработка антигена, исследование структуры генома и т. п.) также проводится с использованием культур клеток. Однако в настоящий момент при получении препаративных количеств вируса КЧС с использованием первичных клеточных культур прослеживается ряд недостатков: трудоемкость получения суспензий клеток органов, нестандартность источника клеток для получения культуры, что препятствует точному воспроизведению результатов отдельных экспериментов и т. д.

Для стандартизации диагностических, вирусологических и молекулярно-генетических исследований подбирают новые, эффективные системы культивирования вируса КЧС, что позволяет стабильно получать в препаративных количествах образцы его антигена и генома [11–12].

Благодаря разработкам по созданию живых аттенуированных вакцин и усовершенствованию способов культивирования вируса КЧС в различных клеточных линиях, стало возможным продуктивное накопление вируса КЧС *in vitro* в клетках перевиваемой линии почки свиньи (IBRS), тестикул ягненка (ТЯ), свиной почки (СП) и т. д. [13–14].

Тем не менее для создания качественных систем репродукции необходимо решить проблемы, связанные с применением первичных культур клеток при выполнении исследовательских задач с целью получения больших объемов вирусосодержащего материала, или задачи по адаптации вируса КЧС к репродукции в перевиваемых линиях клеток [11].

Описанные затруднения частично преодолеваются использованием вируса КЧС, предварительно адаптированного к росту в перевиваемых линиях культур клеток, что существенно упрощает и стандартизирует

результаты многих диагностических и экспериментальных исследований, хотя наличие малого количества адаптированных штаммов вируса и накладывает определенные ограничения [13, 15].

Определение уровня репродукции при культивировании вируса КЧС в культурах клеток дает возможность изучить биологические свойства новых изолятов и поработать вирусосодержащий материал, который может быть использован для препаративного выделения генома вируса, что широко используется при определении родства возбудителей и установления вероятных путей распространения болезни [16].

Целью данной работы являлись отбор вирусных штаммов, обладающих высоким уровнем репродукции *in vitro*, и изучение репродуктивных свойств некоторых штаммов вируса КЧС в различных культурах клеток.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали следующие штаммы вируса КЧС:

- вакцинный штамм «Синлак», полученный из лапинизированного штамма «К» перемежающимися пассажами на культурах клеток РК-13, А₄С₂ и взрослых кроликах (предоставлен лабораторией профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ»);
- штамм CSF Amur 19-10/WB-12555, выделенный в 2019 г. от дикого кабана на территории Амурской области;
- референс-штамм «Ши-Мынь» 48-го пассажа на свиньях.

В опытах по изучению чувствительности различных культур клеток к вирусу КЧС использовали как первичные (СП – свиной почки, ТС – тестикул свиньи, ТЯ – тестикул ягнят), так и перевиваемые (ППЭС – почки эмбриона свиньи, ПСГК – почки сибирского горного козорога, SSs – селезенки свиньи (является субкультурой, линия прошла более 70 пассажей), IBRS – почки свиньи) клетки, полученные из сектора культур клеток отдела инноваций ФГБУ «ВНИИЗЖ».

В качестве поддерживающей питательной среды при культивировании вируса КЧС в различных культурах клеток использовали питательную среду Игла-МЕМ, приготовленную по прописи ФГБУ «ВНИИЗЖ», с добавлением 10%-й эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота и содержанием 50 мг/см³ гентамицина, 2,5 мг/1000 см³ амфотерицина В и 0,3 мг/см³ глутамина.

Конфлюэнтный или субконфлюэнтный монослой клеток инфицировали вирусом КЧС со множественностью заражения не менее 0,1–1,0 ККИД₅₀/кл.

Для заражения культур клеток использовали следующие методы:

1. Заражение без адсорбции – вирус вносили в культуральные флаконы с полностью сформированным клеточным монослоем 2–3-суточных первичных и перевиваемых культур клеток.
2. Заражение с адсорбцией – контакт проводили при температуре 37 °С в течение 60 мин, после чего в культуральный флакон добавляли необходимый объем питательной среды. Для контроля оставляли незараженную культуру клеток, в которой меняли только поддерживающую среду. Ежедневно проводили визуальную регистрацию наличия изменений и степени отторжения клеток от стекла с помощью инвертированного лабораторного микроскопа с бинокулярным тубусом CKX41 PhP FL US50 (Olympus, Япония).

Таблица 1

Результаты анализа в ОТ-ПЦР-РВ проб, отобранных на 3–4-е сут из культуральной жидкости и клеточной суспензии при культивировании вируса КЧС в первичной и перевиваемых культурах клеток ($n = 3$)

Table 1

Results of rtRT-PCR tests of culture fluid and cell suspension samples collected on day 3–4 of CSF virus cultivation in primary and continuous cell cultures ($n = 3$)

Штамм вируса КЧС	Культура клеток	Среднее значение Ct*	
		из культуральной среды	из клеточной суспензии
CSF Amur 19-10/WB-12555	СП	16,4	18,27
	ПСГК	18,25	20,01
	ППЭС	19,66	21,48
	SSs	15,52	17,02
«Ши-Мынь»	СП	17,83	19,11
	ПСГК	17,63	19,64
	ППЭС	17,94	19,86
	SSs	15,85	17,19

* среднее значение Ct при исследовании 3 образцов (average Ct value for 3 tested samples).

Результаты ОТ-ПЦР-РВ оценивают в соответствии с инструкцией производителя (real-time RT-PCR results interpreted in accordance with the rtRT-PCR kit manufacturer are as follows):

– положительный результат – значение Ct не превышает 33,0

(positive result – Ct value is not higher than 33.0);

– сомнительный результат – значение Ct превышает 33,0 (inconclusive result – Ct value is higher than 33.0);

– отрицательный результат – значение Ct отсутствует (negative result – Ct value is absent).

Таблица 2

Результаты исследования методом ОТ-ПЦР-РВ проб, отобранных при культивировании вируса КЧС в первичной и перевиваемых культурах клеток при заражении монослоя клеток с адсорбцией и без адсорбции ($n = 3$)

Table 2

Results of rtRT-PCR tests of culture fluid samples collected during CSF virus cultivation in primary and continuous cell culture when the cell monolayer was infected with or without adsorption ($n = 3$)

Штамм вируса КЧС	Культура клеток	Среднее значение Ct*	
		заражение без адсорбции	заражение с адсорбцией
CSF Amur 19-10/WB-12555	SSs	16,27	20,91
	СП	16,22	16,26
	ППЭС	13,76	17,74
	ПСГК	15,18	15,50
«Ши-Мынь»	SSs	10,78	10,82
	СП	12,97	14,37
	ППЭС	16,03	16,51
	ПСГК	12,14	12,17

* среднее значение Ct при исследовании 3 образцов (average Ct value for 3 tested samples).

Результаты ОТ-ПЦР-РВ оценивают в соответствии с инструкцией производителя (real-time RT-PCR results interpreted in accordance with the rtRT-PCR kit manufacturer are as follows):

– положительный результат – значение Ct не превышает 33,0

(positive result – Ct value is not higher than 33.0);

– сомнительный результат – значение Ct превышает 33,0 (inconclusive result – Ct value is higher than 33.0);

– отрицательный результат – значение Ct отсутствует (negative result – Ct value is absent).

3. Заражение со сменой питательной среды – в качестве поддерживающей питательной среды использовали среду Игла-МЕМ с добавлением 10%-й нормальной сыворотки свиньи (для сравнения применяли свежеприготовленную и замороженную сыворотку свиньи). До заражения культуры проводили смену среды пу-

тем добавления 10 мл среды Игла-МЕМ, содержащей 10%-ю нормальную сыворотку свиньи.

Культуру клеток в пластиковых флаконах с площадью рабочей поверхности 25 см² (T25) инкубировали в термостате или в CO₂-инкубаторе при (37 ± 2) °C в течение 72–96 ч. По истечении указанного срока из культуральных флаконов для постановки ОТ-ПЦР-РВ отбирали пробы:

– из культуральной среды в объеме не менее 100 мкл;

– из клеточной суспензии в объеме не менее 100 мкл.

Проведение последующих пассажей осуществляли либо прямым переносом вирусосодержащей суспензии в свежую культуру клеток, либо после трехкратного замораживания – оттаивания культуральной жидкости предыдущего пассажа.

При отсутствии цитопатического действия вируса КЧС его наличие определяли путем выявления возбудителя или антигена с использованием РПИФ в соответствии с «Методическими указаниями по выделению вируса классической чумы свиней на различных культурах клеток с идентификацией возбудителя в реакции иммунофлуоресценции» [17], или его РНК методом ОТ-ПЦР-РВ согласно «Методическим рекомендациям по выделению вируса классической чумы свиней на первичных культурах клеток (СС, КМС, СП, ТЯ, ТС) с идентификацией возбудителя методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени» [18].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения особенностей репродукции вируса КЧС в первичных и перевиваемых культурах клеток провели сравнительный анализ уровня накопления вирулентных вариантов возбудителя: штамма CSF Amur 19-10/WB-12555, референс-штамма «Ши-Мынь», а также вакцинного штамма «Синлак».

Скорость репродукции оценивали по времени максимального выхода вируса в питательную среду. С этой целью отобранные на 3–4-е сут пробы культуральной жидкости и клеток монослоя анализировали в ОТ-ПЦР-РВ (согласно инструкции по применению тест-системы), исходя из того, что самые высокие значения порогового цикла (Ct) соответствуют минимальному уровню накопления вируса КЧС [19].

Как видно из результатов, приведенных в таблице 1, на 3–4-е сут культивирования вируса КЧС более 90% вирусного материала находится не в клетках, а в культуральной жидкости. Максимальное накопление вируса с выходом вируса в питательную среду регистрировали в культурах клеток СП и SSs.

На следующем этапе для анализа эффективности заражения провели сравнение двух методов инфицирования клеток: внесение вируса непосредственно в питательную среду и с адсорбцией на монослое клеток в течение часа. Как и в предыдущих экспериментах, уровень накопления оценивали в ОТ-ПЦР-РВ по показателям Ct.

Из представленных в таблице 2 данных следует, что существенных различий в накоплении вируса между заражением культуры клеток с адсорбцией на монослое и внесением вирусосодержащего материала в питательную среду не наблюдалось. Единственное значимое различие отмечалось для вируса КЧС штамма CSF Amur 19-10/WB-12555 при репродукции на культуре клеток SSs, когда значение Ct при инфицировании клеток с адсорбцией составило 20,91, а без адсорбции – 16,27.

Проанализировав результаты, полученные для четырех разных культур, установили, что эффективность заражения культуры клеток с адсорбцией была выше на 8,8% по сравнению с использованием метода инокуляции вируса КЧС в культуральную среду.

Для улучшения регенерационной способности культуры клеток и увеличения количества прикрепленных клеток к поверхности культурального флакона в поддерживающую питательную среду добавляли 10%-ю инактивированную нормальную свиную сыворотку. В данном эксперименте для сравнения помимо вирулентных штаммов использовали вакцинный штамм «Синлак» вируса КЧС.

Предварительно, до начала эксперимента и анализа данных по вакцинному штамму «Синлак» вируса КЧС, провели три последовательных пассажа на первичных культурах клеток ТС и ТЯ для достижения желаемых значений Ct (10–12) в ОТ-ПЦР-РВ. Далее для сравнительного анализа также вносили в поддерживающую питательную среду 10%-ю инактивированную нормальную свиную сыворотку и параллельно проводили накопление вируса в среде с 10%-й фетальной сывороткой крупного рогатого скота.

Анализируя представленные в таблице 3 данные, следует отметить, что наилучшие репродукционные свойства вируса КЧС отмечаются при использовании метода со сменой питательной среды и с добавлением 10%-й нормальной свиной сыворотки. Существенное снижение значений Ct, свидетельствующее об увеличении показателей титра вируса, регистрировали при данных условиях как для вирулентных, так и для вакцинного штамма вируса КЧС.

Установлено, что наиболее низкие значения Ct в ОТ-ПЦР-РВ наблюдаются на первичных культурах клеток ТС и ТЯ (для вакцинного штамма), что соответствует более высокому накоплению вируса в них. Данное соотношение регистрировали как у вакцинного, так и у вирулентных штаммов. Проанализировав значения Ct для проб, отобранных с культур клеток СП и IBRS, можно сделать вывод, что использование их для накопления вируса неэффективно, поэтому необходимо проводить предварительную адаптацию вируса КЧС к данным культурам клеток.

Таким образом, установили, что эффективность использования культуры клеток ТС при накоплении вируса КЧС (вирулентных и вакцинного штаммов) на 58% выше, чем при использовании культур ТЯ, СП и IBRS.

В последующих экспериментах провели сравнение эффективности применения свежеприготовленной и замороженной нормальных сывороток свиньи при смене питательной среды.

Как показали результаты исследования, наиболее высокие значения порогового цикла, выявляемые методом ОТ-ПЦР-РВ, наблюдали в опыте с использованием замороженной свиной сыворотки. Однако нельзя исключать тот факт, что использованная в данном эксперименте свежеприготовленная свиная сыворотка крови могла содержать большое количество антител к вирусу КЧС и, следовательно, снизить интенсивность репродукции возбудителя. Из этого следует, что перед добавлением свиной сыворотки в питательную среду необходимо анализировать ее на наличие антител к вирусу КЧС методом ИФА.

По результатам проведенной серии экспериментов отмечено, что лучшие репродуктивные свойства вирус КЧС проявляет на первичной культуре клеток ТС,

Таблица 3

Результаты ОТ-ПЦР-РВ для проб, отобранных при культивировании вируса КЧС в первичных и перевиваемой культурах клеток без смены и со сменой поддерживающей питательной среды с добавлением 10%-й нормальной свиной сыворотки (n = 3)

Table 3

Results of rtRT-PCR tests of culture fluid samples collected during CSF virus cultivation in primary and continuous cell culture with or without changing of minimal essential medium supplemented with 10% normal porcine serum (n = 3)

Штамм вируса КЧС	Культура клеток	Среднее значение Ct*	
		без смены питательной среды	со сменой питательной среды
«Синлак»	ТС	9,41	8,22
	ТЯ	12,18	14,29
	СП	23,84	21,93
CSF Amur 19-10/ WB-12555	ТС	11,09	10,69
	СП	14,98	14,52
	IBRS	16,56	16,10
«Ши-Мынь»	ТС	8,08	7,17
	СП	12,37	11,71
	IBRS	13,83	13,74

* среднее значение Ct при исследовании 3 образцов (average Ct value for 3 tested samples).

Результаты ОТ-ПЦР-РВ оценивают в соответствии с инструкцией производителя (real-time RT-PCR results interpreted in accordance with the rtRT-PCR kit manufacturer are as follows):

– положительный результат – значение Ct не превышает 33,0

(positive result – Ct value is not higher than 33.0);

– сомнительный результат – значение Ct превышает 33,0 (inconclusive result – Ct value is higher than 33.0);

– отрицательный результат – значение Ct отсутствует (negative result – Ct value is absent).

Таблица 4

Результаты ОТ-ПЦР-РВ при культивировании вируса КЧС в первичных культурах клеток ТЯ, ТС с добавлением к питательной среде свежеприготовленной или замороженной 10%-й свиной сыворотки (n = 3)

Table 4

Results of rtRT-PCR tests of culture fluid samples collected during CSF virus cultivation in primary porcine testicle and lamb testicle cell cultures in minimal essential medium supplemented with freshly prepared or frozen 10% porcine serum (n = 3)

Штамм вируса КЧС	Культура клеток	Среднее значение Ct*	
		с добавлением свежей свиной сыворотки	с добавлением замороженной свиной сыворотки
«Синлак»	ТЯ	17,57	13,26
	ТС	16,48	11,16
CSF Amur 19-10/ WB-12555	ТС	15,63	14,71
«Ши-Мынь»	ТС	15,09	12,08

* среднее значение Ct при исследовании 3 образцов (average Ct value for 3 tested samples).

Результаты ОТ-ПЦР-РВ оценивают в соответствии с инструкцией производителя (real-time RT-PCR results interpreted in accordance with the rtRT-PCR kit manufacturer are as follows):

– положительный результат – значение Ct не превышает 33,0

(positive result – Ct value is not higher than 33.0);

– сомнительный результат – значение Ct превышает 33,0 (inconclusive result – Ct value is higher than 33.0);

– отрицательный результат – значение Ct отсутствует (negative result – Ct value is absent).

среднее значение порогового цикла Ct при использовании данной культуры составляет 12,89.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Поскольку для создания диагностикумов необходимо накопление препаративных количеств антигена или генома вируса КЧС, достижение высокого уровня

репродукции вируса КЧС в культуре клеток являлось основной целью проведенных исследований. Определили, что максимальное накопление вируса КЧС наблюдается на 3–4-е сут с выходом его в питательную среду. Использование метода заражения культуры клеток с адсорбцией оказалось малоэффективным. Целесообразно добавление отрицательной на наличие антител к вирусу КЧС 10%-й свиной сыворотки крови, а не бычьей фетальной.

На основании проведенных исследований по определению репродуктивных свойств вируса КЧС вирулентных и вакцинных штаммов в первичных и перевиваемых культурах клеток для дальнейшей разработки диагностических препаратов были отобраны: вакцинный штамм «Синлак», который эффективно накапливается в культурах клеток ТС и ТЯ при добавлении в питательную среду 10%-й нормальной сыворотки свиньи, и вирулентный штамм CSF Amur 19-10/WB-12555, происходящий от изолята, выделенного в 2019 г. от дикого кабана на территории Амурской области РФ. Для накопления вируса данного штамма также целесообразно использование культуры клеток ТС.

В дальнейшей перспективе изучения отобранных штаммов для использования в диагностических целях необходимо провести генетический анализ этих вариантов вируса КЧС, что даст возможность определить наличие у них уникальных генетических маркеров, которые позволят дифференцировать изоляты и штаммы данного вируса.

Резюмируя вышеизложенное, стоит отметить, что в области эрадикации и контроля распространения КЧС важной разработкой будет являться DIVA-стратегия как улучшенный инструмент, который может успешно применяться в странах, где КЧС энзоотична, для мониторинга циркуляции вируса и в неблагополучных по КЧС странах для минимизации распространения вируса и экономического ущерба в случае возникновения вспышки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Жестерев В. И., Балышева В. И., Чурбанова Г. Н., Устаров Р. Д., Зуев В. В. Изучение некоторых биологических свойств вируса КЧС. *Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии: материалы научно-практической конференции ВНИИВВиМ «Классическая чума свиней – неотложные проблемы науки и практики»* (9–11 ноября 1994 г.). Покров; 1995; 14–15. eLIBRARY ID: 20845304.
- Барышников П. И. Ветеринарная вирусология: учебное пособие. Барнаул: Изд-во АГАУ; 2006. 113 с.
- Крупальник В. Л., Наврузшоева Г. Ш. Классическая и африканская чума свиней: Лекция. М.: ФГОУ ВПО МГАВМиБ им. К. И. Скрябина; 2012. 37 с.
- Федорова А. А., Корпусова Т. И., Петрова О. Н., Решетников Г. Г., Ковалишин В. Ф., Пронин И. А. и др. Иммунобиологические свойства культурального штамма вируса классической чумы свиней. *Проблемы мониторинга и генодиагностики инфекционных болезней животных: материалы Международной научной конференции молодых ученых (24–26 марта 2004 г.)*. Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ»; 2004; 100–101.
- Бабкин Н. В. Использование метода флуоресцирующих антител для определения чувствительности культур клеток к вирусу КЧС. *Ветеринарная медицина*. Харьков; 2005; 85: 50–52.
- Вишняков И. Ф., Митин Н. И., Карпов Г. М., Куриннов В. В., Яшин А. Т. Диагностика и дифференциальная диагностика африканской и классической чумы свиней. *Ветеринария*. 1991; 4: 28–31. eLIBRARY ID: 18836843.
- Егорова А. И., Толокнов А. С., Филина А. Ю., Окулова О. Н. Выявление вируса КЧС в полевых материалах методом реакции иммунофлуоресценции (РИФ) в перевиваемых гибридных клетках. *Проблемы инфекционной патологии сельскохозяйственных животных: тезисы докладов конференции, посвященной 100-летию открытия вируса ящура (27–31 октября 1997 г.)*. Владимир; ВНИИЗЖ; 1997; 118.
- Безбородова С. В., Дрыгин В. В., Перевозчикова Н. А. Повышение чувствительности и специфичности метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления вируса классической чумы свиней (КЧС).

Вирусные болезни сельскохозяйственных животных: тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции (17–23 апреля 1995 г.). Владимир: ВНИИЗЖ; 1995; 15.

9. Gallei A., Rümenapf T., Thiel H. J., Becher P. Characterization of helper virus-independent cytopathogenic classical swine fever virus generated by an *in vivo* RNA recombination system. *J. Virol.* 2005; 79 (4): 2440–2448. DOI: 10.1128/JVI.79.4.2440-2448.2005.

10. Филина А. Ю., Герасимов В. Н., Байбиков Т. З., Егорова А. И. Культивирование различных штаммов вируса классической чумы свиней в перевиваемых культурах клеток. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2007; 5: 278–284. eLIBRARY ID: 14454067.

11. Сергеев В. А., Орлянкин Б. Г., Алексеев К. П., Забережный А. Д., Алипер Т. И., Непоклонов Е. А. Вакцины и стратегия вакцинации против классической чумы свиней. *Ветеринария*. 2018; 4: 3–11. eLIBRARY ID: 32825056.

12. Гребенникова Т. В., Забережный А. Д., Алипер Т. И., Непоклонов Е. А. Генетическая характеристика вакцинного штамма КС вируса классической чумы свиней: сравнительный анализ первичной последовательности генов поверхностных гликопротеинов E^{ms}, E1, E2. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 1999; 2: 34–40. eLIBRARY ID: 21818654.

13. Raut S. D., Rajak K. K., Kumar R., Singh V. K., Saxena A., Chaudhary D., et al. Characterization of cytopathogenicity of classical swine fever virus isolate induced by Newcastle disease virus. *Virus Disease*. 2015; 26 (1–2): 70–76. DOI: 10.1007/s13337-015-0253-0.

14. Zhang H., Leng C., Feng L., Zhai H., Chen J., Liu C., et al. A new subtype 2.1d isolates of classical swine fever virus in China, 2014. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 34: 94–105. DOI: 10.1016/j.meegid.2015.05.031.

15. Коломыцев А. А., Миколайчук С. В. Анализ выполнения мероприятий по борьбе с классической чумой свиней, принятых на всесоюзном и всероссийском уровнях, разрабатываемых ВНИИВВиМ. *Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии: материалы научно-практической конференции ВНИИВВиМ «Классическая чума свиней – неотложные проблемы науки и практики»* (9–11 ноября 1994 г.). Покров; 1995; 107–108. eLIBRARY ID: 20844475.

16. Перзашкевич В. С., Кадетов В. В., Цыбанов С. Ж., Куриннов В. В., Балышева В. И. Очистка вируса классической чумы свиней. *Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии: материалы научно-практической конференции ВНИИВВиМ «Классическая чума свиней – неотложные проблемы науки и практики»* (9–11 ноября 1994 г.). Покров; 1995; 20–21. eLIBRARY ID: 20849169.

17. Методические указания по выделению вируса классической чумы свиней на различных культурах клеток с идентификацией возбудителя в реакции иммунофлуоресценции: утв. Россельхознадзором 13.09.2017 МУ 19-17. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2017. 21 с.

18. Колбин И. С., Власова Н. Н., Иголкин А. С., Елсукова А. А., Гаврилова В. Л., Пузанкова О. С. Методические рекомендации по выделению вируса классической чумы свиней на первичных культурах клеток (СС, КМС, СП, ТЯ, ТС) с идентификацией возбудителя методом полимеразной цепной реакции с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 14.09.2021 № 42-21. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2021. 56 с.

19. Инструкция по применению тест-системы «КЧС» для выявления возбудителя классической чумы свиней методом полимеразной цепной реакции с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени: утв. 26.10.2020. М.: ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора. 2020. 25 с.

REFERENCES

- Gesterev V. I., Balysheva V. I., Churbanova G. N., Ustarov R. D., Zuev V. V. Izuchenie nekotorykh biologicheskikh svoystv virusa KChS = Study of some CSF biological properties. *Aktual'nye voprosy veterinarnoi virusologii: materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii VNIIVViM «Klassicheskaya chuma svinei – neotlozhnye problemy nauki i praktiki»* (9–11 noyabrya 1994 g.) = *Current aspects of veterinary virology: Proceedings of the Scientific and Practical Conference held at the All-Russia Research Institute for Veterinary Virology and Microbiology: "Classical swine fever – urgent scientific and practical challenges"* (November 9–11, 1994). Pokrov; 1995; 14–15. eLIBRARY ID: 20845304. (in Russ.)
- Baryshnikov P. I. Veterinary virology: study guide. Barnaul: ASAU Publishing House; 2006. 113 p. (in Russ.)
- Krupalnik V. L., Navruzshoeva G. S. Classical and African swine fever: Lecture. Moscow: Moscow SAVMB; 2012. 37 p. (in Russ.)
- Fedorova A. A., Korpusova T. I., Petrova O. N., Reshetnikov G. G., Kovalev V. F., Pronin I. A., et al. Immunobiological properties of culture classical swine fever virus strain. *Problemy monitoringa i genodiagnostiki infektsionnykh bolezney zhivotnykh: materialy Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii molodykh uchenykh (24–26 marta 2004 g.)* = *Problems of monitoring and genodiagnostics of infectious animal diseases: proceedings*

of the International Scientific Conference of Young Scientists (March 24–26, 2004). Vladimir: FGI "ARRIAH"; 2004; 100–101. (in Russ.)

5. Babkin N. V. Ispol'zovanie metoda fluorestsiruyushchikh antitel dlya opredeleniya chuvstvitel'nosti kul'tur kletok k virusu KChS = Use of fluorescent antibody technique for testing cell cultures for their sensitivity to CSF virus. *Veterinary Medicine*. Kharkiv; 2005; 85: 50–52. (in Russ.)

6. Vishnyakov I. F., Mitin N. I., Karpov G. M., Kurinnov V. V., Yashin A. T. Diagnostika i differentsial'naya diagnostika afrikanской i klassicheskoi chumy svinei = African and classical swine fever diagnosis and differential diagnosis. *Veterinariya*. 1991; 4: 28–31. eLIBRARY ID: 18836843. (in Russ.)

7. Egorova A. I., Toloknov A. S., Filina A. Yu., Okulova O. N. Vyyavlenie virusa KChS v polevykh materialakh metodom reaktsii immunofluores-tsentsii (RIF) v perevivaemykh gibridnykh kletkakh = Detection of CSF virus in field samples with immunofluorescence test (IFT) in continuous hybrid cells. *Problemy infektsionnoi patologii sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: tezisy dokladov konferentsii, posvyashchennoi 100-letiyu otkrytiya virusa yashchura (27–31 oktyabrya 1997 g.) = Aspects of infectious pathology in livestock animals: Abstracts of the Conference dedicated to the 100 anniversary of FMD virus discovery (October 27–31, 1997)*. Vladimir: ARRIA; 1997; 118. (in Russ.)

8. Bezborodova S. V., Drygin V. V., Perevozchikova N. A. Povyshenie chuvstvitel'nosti i spetsifichnosti metoda polimeraznoi tsepoi reaktsii (PTSR) dlya vyyavleniya virusa klassicheskoi chumy svinei (KChS) = Improved sensitivity and specificity of the polymerase chain reaction (PCR) for detection of classical swine fever virus. *Virusnye bolezni sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: tezisy dokladov Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (17–23 aprelya 1995 g.) = Viral diseases of livestock animals: abstracts of the All-Russia Scientific and Practical Conference (April 17–23, 1995)*. Vladimir: ARRIA; 1995; 15. (in Russ.)

9. Gallei A., Rümenapf T., Thiel H. J., Becher P. Characterization of helper virus-independent cytopathogenic classical swine fever virus generated by an in vivo RNA recombination system. *J. Virol.* 2005; 79 (4): 2440–2448. DOI: 10.1128/JVI.79.4.2440-2448.2005.

10. Filina A. Yu., Gerasimov V. N., Baibikov T. Z., Yegorova A. I. Cultivation of different classical swine fever virus strains in continuous cell cultures. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2007; 5: 278–284. eLIBRARY ID: 14454067. (in Russ.)

11. Sergeyev V. A., Orlyankin B. G., Alekseyev K. P., Zaberezhny A. D., Aliper T. I., Nepoklonov E. A. Vaccines and vaccination strategies against classical swine fever. *Veterinariya*. 2018; 4: 3–11. eLIBRARY ID: 32825056. (in Russ.)

12. Grebennikova T. V., Zaberezhny A. D., Aliper T. I., Nepoklonov E. A. Geneticheskaya kharakteristika vaktinnogo shtamma KS virusa klassicheskoi chumy svinei: sravnitel'nyi analiz pervichnoi posledovatel'nosti genov poverkhnostnykh glikoproteinov E^{ms}, E1, E2 = Genetic characterization of KS strain of classical swine fever virus: comparative analysis of primary sequences of E^{ms}, E1, E2 surface glycoprotein genes. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 1999; 2: 34–40. eLIBRARY ID: 21818654. (in Russ.)

13. Raut S. D., Rajak K. K., Kumar R., Singh V. K., Saxena A., Chaudhary D., et al. Characterization of cytopathogenicity of classical swine fever

virus isolate induced by Newcastle disease virus. *Virus Disease*. 2015; 26 (1–2): 70–76. DOI: 10.1007/s13337-015-0253-0.

14. Zhang H., Leng C., Feng L., Zhai H., Chen J., Liu C., et al. A new subtype 2.1d isolates of classical swine fever virus in China, 2014. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 34: 94–105. DOI: 10.1016/j.meegid.2015.05.031.

15. Kolomytsev A. A., Mikolaichuk S. V. Analiz vypolneniya meropriyatii po bor'be s klassicheskoi chumoi svinei, prinyatykh na vsesoyuznom i vserossiiskom urovnyakh, razrabatyvaemykh VNIIViM = Analysis of implementation of the measures for classical swine fever control developed by the All-Russia Research Institute for Veterinary Virology and Microbiology adopted at all-USSR and all-Russian Federation levels. *Aktual'nye voprosy veterinarnoi virusologii: materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii VNIIViM «Klassicheskaya chuma svinei – neotlozhnye problemy nauki i praktiki» (9–11 noyabrya 1994 g.) = Current aspects of veterinary virology: Proceedings of the Scientific and Practical Conference held at the All-Russia Research Institute for Veterinary Virology and Microbiology: "Classical swine fever – urgent scientific and practical challenges" (November 9–11, 1994)*. Pokrov; 1995; 107–108. eLIBRARY ID: 20844475. (in Russ.)

16. Perzashkevich V. S., Kadetov V. V., Tsybanov S. Zh., Kurinnov V. V., Balyshova V. I. Ochistka virusa klassicheskoi chumy svinei = Purification of classical swine fever virus. *Aktual'nye voprosy veterinarnoi virusologii: materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii VNIIViM «Klassicheskaya chuma svinei – neotlozhnye problemy nauki i praktiki» (9–11 noyabrya 1994 g.) = Current aspects of veterinary virology: Proceedings of the Scientific and Practical Conference at the All-Russia Research Institute for Veterinary Virology and Microbiology: "Classical swine fever – urgent scientific and practical challenges" (November 9–11, 1994)*. Pokrov; 1995; 20–21. eLIBRARY ID: 20849169. (in Russ.)

17. Methodical Guidelines for classical swine fever virus isolation in different cell cultures followed by the virus identification with immunofluorescence test: approved by the Rosselkhoz nadzor on 13 September 2017, MG 19-17. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2017. 21 p. (in Russ.)

18. Kolbin I. S., Vlasova N. N., Igolkin A. S., Elskova A. A., Gavrilova V. L., Puzankova O. S. Methodical Guidelines for classical swine fever virus isolation in primary cell cultures (PS, PBM, PK, PT, LT) followed by the virus identification with real-time polymerase chain reaction including detection using fluorescent hybridization probes: approved by the FGBI "ARRIAH" on 14 September 2021, No. 42-21. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2021. 56 p. (in Russ.)

19. Instruction on use of CSF test kit for detection of classical swine fever agent with real-time polymerase chain reaction including detection using fluorescent hybridization probes: approved on 26 October 2020. Moscow: Federal Budgetary Scientific Institution "Central Research Institute of Epidemiology" of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. 2020. 25 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 25.02.2022

Поступила после рецензирования / Revised 05.04.2022

Принята к публикации / Accepted 12.05.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Колбин Иван Сергеевич, аспирант, ведущий биолог 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.

Гаврилова Вера Львовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Пузанкова Ольга Сергеевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Аронова Елена Владимировна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Елсукова Александра Андреевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней 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.

Ivan S. Kolbin, Post-Graduate Student, Leading Biologist, 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.

Vera L. Gavrilova, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

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

Alexandra A. Yelsukova, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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



Влияние сыворотки крови крупного рогатого скота на ростовые свойства питательной среды для культивирования *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*

Д. А. Козлов¹, М. С. Волков², Т. Ю. Черняева³, М. И. Сорокина⁴, В. Н. Ирза⁵

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-4893-6567>, e-mail: kozlov_da@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-8819-0720>, e-mail: volkov_ms@arriah.ru

³ e-mail: chernyayeva@arriah.ru

⁴ e-mail: sorokina@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>, e-mail: irza@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Ростовые свойства питательных сред для культивирования патогенных микоплазм зависят от вида сыворотки крови в их составе. Проведены сравнительные испытания двух бесклеточных питательных сред с добавлением сывороток крови свиней и крупного рогатого скота для культивирования штаммов «S6» *Mycoplasma gallisepticum* и «WVU 1853» *Mycoplasma synoviae*. Изучение ростовых свойств испытуемых питательных сред проводили путем определения активности полученной биомассы в реакции гемагглютинации и реакции агглютинации, а также оценки концентрации жизнеспособных клеток после 9-го пассажа культивирования. Показано, что бесклеточная питательная среда с сывороткой крови свиней является оптимальной для культивирования патогенных видов микоплазм, вызывающих инфекционные заболевания у птиц. Гемагглютинирующая активность культуры *Mycoplasma gallisepticum* достигала 5 ГАЕ log₂ после 72 ч культивирования, агглютинирующая активность *Mycoplasma synoviae* – 5 АЕ log₂ за 88-часовой период инкубации, концентрация жизнеспособных клеток обоих штаммов была на уровне 10⁶ КОЕ/см³. Низкие ростовые свойства среды, приготовленной с добавлением сыворотки крови крупного рогатого скота, вероятнее всего, связаны с ее биохимическим составом, которая содержит в 5–20 раз больше провитамина А, нежели сыворотка крови свиней, а холестерин в основном представлен липопротеинами высокой плотности. Напротив, в сыворотке крови свиней большая часть липопротеинов имеет низкую плотность, содержащих большое количество жирных кислот и холестерина, которые и являются основными структурными элементами клеток микоплазм. Полученные результаты исследований имеют практическую ценность и могут быть использованы в технологии культивирования патогенных видов микоплазм птиц при производстве средств диагностики и профилактики.

Ключевые слова: *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, питательная среда, культивирование, сыворотка крови

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

Для цитирования: Козлов Д. А., Волков М. С., Черняева Т. Ю., Сорокина М. И., Ирза В. Н. Влияние сыворотки крови крупного рогатого скота на ростовые свойства питательной среды для культивирования *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 156–162. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-156-162.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Козлов Дмитрий Александрович, аспирант, ведущий ветеринарный врач лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: kozlov_da@arriah.ru.

Influence of bovine blood serum on growth properties of nutrient media for *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* cultivation

D. A. Kozlov¹, M. S. Volkov², T. Yu. Chernyayeva³, M. I. Sorokina⁴, V. N. Irza⁵

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-4893-6567>, e-mail: kozlov_da@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-8819-0720>, e-mail: volkov_ms@arriah.ru

³ e-mail: chernyayeva@arriah.ru

⁴ e-mail: sorokina@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>, e-mail: irza@arriah.ru

SUMMARY

The growth properties of the nutrient medium for the cultivation of pathogenic mycoplasmas depend on the type of blood serum it is supplemented with. Comparative tests of two cell-free nutrient media supplemented with bovine and porcine blood sera for the cultivation of strains "S6" *Mycoplasma gallisepticum* and "WVU 1853" *Mycoplasma synoviae* were performed. Growth properties of the tested nutrient media were assessed by determining the activity of the resulting biomass in the hemagglutination and agglutination assays, as well as by determining the concentration of viable cells after the 9th passage. It has been shown that a cell-free nutrient medium supplemented with the porcine blood serum is optimal for the cultivation of pathogenic mycoplasma species causing infectious diseases in birds. The hemagglutinating activity of the *Mycoplasma gallisepticum* culture reached 5 HAU log₂ after 72 hours of cultivation, the agglutinating activity of *Mycoplasma synoviae* reached 5 AU log₂ during the 88-hour incubation period, the concentration of viable cells of both strains was 10⁶ CFU/cm³. The low growth properties of the medium prepared with the addition of bovine blood serum are most likely associated with its biochemical composition, which contains 5–20 times more provitamin A than the porcine blood serum, and high density lipoprotein cholesterol. On the contrary, in the porcine blood serum, most of the lipoproteins have a low density, containing a large amount of fatty acids and cholesterol, which are the main structural elements of mycoplasma cells. The obtained test results are of practical value and can be used in the technology of cultivation of pathogenic species of avian mycoplasmas in the production of diagnostic and preventive tools.

Keywords: *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*, nutrient medium, cultivation, blood serum

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

For citation: Kozlov D. A., Volkov M. S., Chernyayeva T. Yu., Sorokina M. I., Irza V. N. Influence of bovine blood serum on growth properties of nutrient media for *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* cultivation. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 156–162. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-156-162.

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

For correspondence: Dmitry A. Kozlov, Post-Graduate Student, Leading Veterinarian, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: kozlov_da@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Микоплазмы – бактерии, ключевое отличие которых от других представителей прокариот заключается в отсутствии клеточной стенки, что и объясняет их резистентность к ряду антибактериальных препаратов. Данные микроорганизмы могут приобретать разнообразные формы: шаровидную, дисковидную, палочковидную, нитевидную. Размер молликут варьируется от 0,1 до 1,5 мкм. Другая особенность микоплазм заключается в том, что при росте на питательных средах и делении клеток их размеры меньше теоретического предела самостоятельного воспроизводства. Микоплазмы размножаются почкованием, бинарным делением, фрагментацией, делятся на неравноценные по размеру клетки, вследствие чего одна из новообразованных клеток может быть нежизнеспособна. Многие виды микоплазм являются труднокультивируемыми и плохо адаптируются к питательным средам, что создает определенные трудности в технологии производства диагностических систем и вакцинных препаратов [1, 2].

В процессе роста они нуждаются в отдельных аминокислотах (аргинине, изолейцине, метионине, фенилаланине, аспарагине), отмечена потребность в солях желчных и жирных кислот. Одной из сред, способных обеспечить рост многих видов молликут, является модифицированная среда Фрея, в состав которой входит PPLO-бульон, декстроза, сыворотка крови свиней, β-никотинамидадениндинуклеотид и L-цистеина гидрохлорид. Указанная среда является источником аминокислот, углеводов, различных витаминов, необходимых для роста микоплазм [2, 3]. Сыворотку крови для питательной среды получают преимущественно от свиней или лошадей, так как сыворотки крови других животных могут не только замедлить рост, но и полностью его ингибировать. Сыворотка крови, как стиму-

лятор роста микоплазм, является важной составной частью среды, без которой культивирование на бесклеточных питательных средах становится невозможным.

Изучение возможности использования сывороток крови от разных видов животных в составе питательных сред для микоплазм может принести положительный опыт в вопросе их лабораторного или производственного культивирования.

По отношению к кислороду микоплазмы принадлежат либо к строгим аэробам, либо к облигатным анаэробам. На этапах первых посевов период роста молликут составляет от 3 до 7 сут, затем в процессе пересевания скорость роста может значительно увеличиваться.

Культивирование данных микроорганизмов является важным звеном в создании средств диагностики, специфической профилактики, которая является альтернативой антибиотикотерапии в вопросе искоренения инфекций микоплазменной этиологии в промышленных птицеводческих хозяйствах [4].

Введение на предприятиях интенсивной технологии выращивания птицы привело к широкому распространению микоплазмозов среди производственной птицы [5, 6]. Таким инфекциям, как респираторный микоплазмоз и инфекционный синовит, подвержены куры, индейки, голуби, перепела и куропатки. Клиническими проявлениями респираторного микоплазмоза (возбудитель – *Mycoplasma gallisepticum*) является поражение органов дыхания (ринит, ларингит, аэросаккулит, пневмония), конъюнктивит, синусит, среди системных поражений организма выделяют бурсит, анемию, тендовагинит [7–9].

Экономический ущерб при данных заболеваниях складывается из снижения яичной продуктивности птицы, замедленного роста, снижения выводимости

яиц. Также для инфекции, обусловленной *Mycoplasma synoviae*, характерно снижение качества яичной скорлупы – проявление синдрома стекловидной вершины яйца [10]. Иммуносупрессивные свойства микоплазм делают неэффективными мероприятия по специфической профилактике других экономически значимых заболеваний, не давая развиваться иммунному ответу при введении живых вакцин [11–13].

Изучение влияния обязательных компонентов в среде, влияющих на рост микоплазм, в данном случае сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС), является актуальной проблемой в микоплазмологии при создании средств диагностики и профилактики рассматриваемых инфекций.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе работы использовали штаммы «WVU 1853» *Mycoplasma synoviae* и «S6» *Mycoplasma gallisepticum*, полученные из ФГБУ «ВГНКИ» (г. Москва).

Культивирование *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae* осуществляли на жидкой и плотной модифицированной питательной среде Фрея, в состав которой входили дистиллированная вода, среда для культивирования плеввропневмониеподобных организмов (PPLO broth base), дрожжевой экстракт, глюкоза, ацетат талия и сыворотка крови свиней или КРС [14]. Ранее проведенные исследования показали, что 12%-я концентрация сыворотки крови свиней в составе среды обеспечивает оптимальный рост *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*, поэтому концентрацию данного компонента при проведении эксперимента не изменяли. При выращивании *Mycoplasma synoviae* в питательную среду в качестве V-фактора роста также добавляли β-никотинамидадениндинуклеотид (1%-й раствор) и L-цистеина гидрохлорид (1%-й раствор). Феноловый красный служил индикатором контроля роста биомассы. Так как микоплазмы чувствительны к кислотности среды, то кислотно-щелочной баланс при приготовлении среды уравнивали до pH 7,8–8,0. Для предупреждения роста посторонних микроорганизмов в среду вносили антибиотики (бензилпенициллина натриевую соль) и ацетат талия (10%-й раствор) [15].

Культивирование микоплазм производили в термостате при температуре (37,5 ± 0,5) °C. Время культивирования зависит от вида микоплазм. Так, оптимальная

продолжительность культивирования *Mycoplasma gallisepticum* составляла от 48 до 96 ч, а *Mycoplasma synoviae* – от 3 до 7 сут. Рост биомассы отслеживали по изменению цвета индикатора и прозрачности питательной среды. В процессе роста среда изменяла цвет с красно-коричневого на желто-коричневый и незначительно мутнела или опалесцировала. Рост *Mycoplasma synoviae* сопровождался образованием масляной пленки на поверхности среды.

Концентрацию живых клеток микоплазм определяли методом титрования на плотных питательных средах в чашках Петри. Для этого готовили 10-кратные разведения для культуры *Mycoplasma gallisepticum* и 5-кратные для культуры *Mycoplasma synoviae*, которые инкубировали в течение 5 сут при температуре (37,5 ± 0,5) °C. Затем чашки просматривали под микроскопом Micros MC 50 X (Австрия) при 200-кратном увеличении для обнаружения характерных колоний, имеющих вид «яичницы-глазуньи». Средняя арифметическая величина колоний в нескольких неперекрывающихся полях зрения соответствует количеству колониеобразующих единиц (КОЕ).

Подсчет КОЕ в поле зрения микроскопа производили по формуле:

$$T = N \times 10^d \times K / V,$$

где T – титр КОЕ в 1 см³;

N – среднее арифметическое число колоний в одном поле зрения микроскопа;

d – степень разведения культуры;

K – коэффициент, равный отношению площади чашки к площади поля зрения микроскопа (площадь поля зрения микроскопа определяли с помощью мерного стекла);

V – объем культуральной биомассы, добавленной на плотную питательную среду.

При оценке ростовых свойств бесклеточной питательной среды (БКПС) внимание уделялось также определению гемагглютинирующей активности *Mycoplasma gallisepticum* и агглютинирующей активности *Mycoplasma synoviae* в реакциях гемагглютинации (РГА) и агглютинации (РА) соответственно [16, 17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Основным критерием при подборе сыворотки крови для приготовления питательной среды является

Таблица 1
Ростовые свойства БКПС с добавлением сыворотки крови КРС для культивирования *Mycoplasma gallisepticum*

Table 1
Growth properties of the cell-free nutrient medium supplemented with the bovine blood serum for *Mycoplasma gallisepticum* cultivation

Образцы БКПС	Содержание сыворотки крови КРС (%)	Время роста биомассы (ч), 1–3-й пассажи	Время роста биомассы (ч), 1–3-й пассажи после клонирования	Время роста биомассы (ч), 1–3-й пассажи после повторного клонирования	Активность культуры на 9-м пассаже в РГА (ГАЕ log ₂)	Ростовые свойства на 9-м пассаже (КОЕ/см ³)
1	12	118–120	115–120	94–96	2,0	10 ^{3,5}
2	15	118–120	115–120	94–96	2,5	10 ⁶
3	20	117–120	114–120	92–94	3,0	10 ⁵
4	25	115–120	112–120	90–94	3,0	10 ⁵
Контроль (БКПС с сывороткой крови свиней)	12	72–78	68–72	68–72	5,0	10 ⁶

получение максимального количества биомассы культивируемых культур с максимально возможной гемагглютинирующей (для *Mycoplasma gallisepticum*) и агглютинирующей (для *Mycoplasma synoviae*) активностью.

В процессе опыта было проведено 9 пассажей и 2 процедуры клонирования обеих культур на уровне 3-го и 6-го пассажей. Полученные после последнего пассажа культуры исследовали в РА и РГА для установления активности и ростовых свойств после адаптации к питательной среде, параллельно проводились пассажи с контрольной БКПС (с сывороткой крови свиней) для сравнения результатов.

Критерий выбора типа сыворотки крови для приготовления питательной среды основывался на подсчете КОЕ для *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae* при микроскопии на плотной питательной среде. Результаты проведенного исследования представлены в таблицах 1 и 2.

Установлено, что БКПС, содержащая сыворотку крови КРС в концентрации от 12 до 25%, обеспечивала рост и накопление *Mycoplasma gallisepticum* на протяжении 3 пассажей в диапазоне от 115 до 120 ч. При этом концентрация сыворотки крови КРС в среде не оказывала существенного влияния на ее ростовые свойства. При использовании в составе БКПС сыворотки крови свиней в концентрации 12% уже на 1-м пассаже время культивирования сокращалось на 40–45 ч, что является важным фактором в технологии производства средств диагностики и профилактики инфекционных заболеваний птиц микоплазменной этиологии.

Для получения аксенической культуры микроорганизма на 3-м пассаже было произведено клонирова-

ние на плотной питательной среде Фрея с ацетатом таллия. Использование клона *Mycoplasma gallisepticum* способствует повышению адаптации микроорганизма к таким новым условиям, как изменение состава среды для культивирования, что, в свою очередь, сокращает время культивирования и увеличивает концентрацию клеток микоплазм в объеме биомассы. Так, после повторного клонирования на 3-м пассаже время роста значительно уменьшилось с 120 до 96 ч.

При оценке гемагглютинирующих свойств культуры *Mycoplasma gallisepticum* в РГА установлено, что после 9-го пассажа активность культуры, выросшей на среде с сывороткой крови КРС, находилась в пределах от 2,0 до 3,0 $\log_2$, что является относительно низким показателем по сравнению с ростом культуры на контрольной среде с сывороткой крови свиней, где титр ГАЕ составил 5,0 $\log_2$.

Подсчет живых клеток в 1 см³ питательной среды показал, что наименьшая их концентрация ($10^{3.5}$ КОЕ/см³) наблюдалась при использовании среды, содержащей 12% сыворотки крови КРС, в то время как при использовании в составе БКПС сыворотки крови свиней (12%) концентрация клеток микоплазм была максимальной и составляла 10^6 КОЕ/см³. Увеличение концентрации сыворотки крови КРС в среде от 15 до 25% положительно влияло на ее ростовые свойства, при этом титр КОЕ находился в диапазоне 10^5 – 10^6 на 1 см³. Однако качество получаемого антигена определяется не только концентрацией клеток в объеме среды, но и совокупностью показателей, включающих время роста, гемагглютинирующую и агглютинирующую активность, КОЕ. Таким образом, сыворотка крови свиней в составе

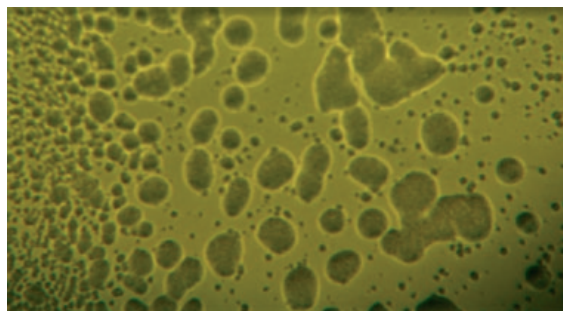
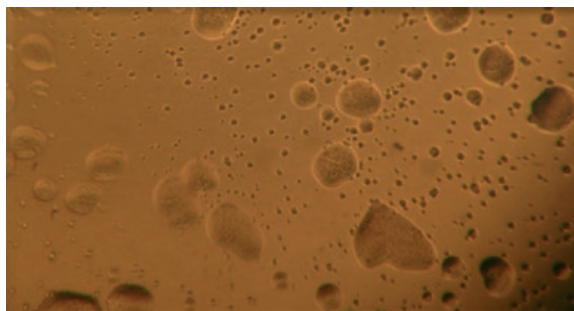


Рис. 1. Колонии *Mycoplasma gallisepticum*, выращенные на БКПС с добавлением сыворотки крови КРС (увеличение 200х)

Fig. 1. *Mycoplasma gallisepticum* colonies, grown on the cell-free nutrient medium supplemented with the bovine blood serum (magnification 200х)

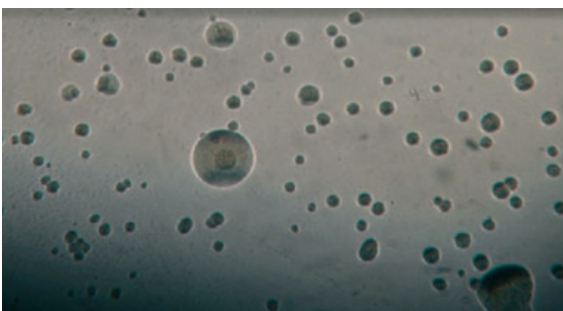
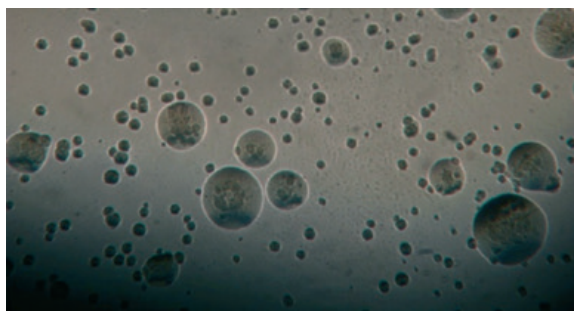


Рис. 2. Колонии *Mycoplasma gallisepticum*, выращенные на БКПС с добавлением сыворотки крови свиней (увеличение 200х)

Fig. 2. *Mycoplasma gallisepticum* colonies, grown on the cell-free nutrient medium supplemented with the porcine blood serum (magnification 200х)

Таблица 2

Ростовые свойства БКПС с добавлением сыворотки крови КРС для культивирования *Mycoplasma synoviae*

Table 2

Growth properties of the cell-free nutrient medium supplemented with the bovine blood serum for *Mycoplasma synoviae* cultivation

Образцы БКПС	Содержание сыворотки крови КРС (%)	Время роста биомассы (ч), 1–3-й пассажи	Время роста биомассы (ч), 1–3-й пассажи после клонирования	Время роста биомассы (ч), 1–3-й пассажи после повторного клонирования	Активность культуры на 9-м пассаже в РА (АЕ log ₂)	Ростовые свойства на 9-м пассаже (КОЕ/см ³)
1	12	140–144	115–120	94–96	2,0	10 ³
2	15	140–144	115–120	94–96	2,5	10 ³
3	20	138–140	114–120	92–94	3,0	10 ⁴
4	25	138–140	112–120	90–94	3,0	10 ⁴
Контроль (БКПС с сывороткой крови свиней)	12	78–96	78–88	78–88	5,0	10 ⁶

питательной среды Фрея обеспечивает максимальное накопление культуры *Mycoplasma gallisepticum* при минимальном времени культивирования.

На рисунке 1 представлены микрофотографии колоний *Mycoplasma gallisepticum*, выращенных на питательной среде с сывороткой крови КРС. Колонии возбудителя в поле зрения микроскопа распределены неравномерно, морфология их полиморфна, встречаются овальные, грушевидные, плохо оформленные колонии разного размера, центр не выражен или занимает большую часть колонии.

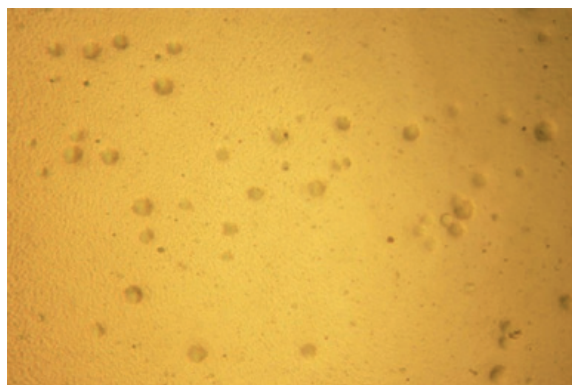
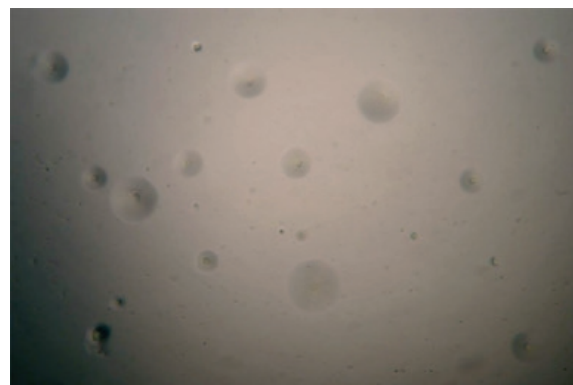
На рисунке 2 изображены колонии *Mycoplasma gallisepticum*, выращенные на питательной среде с сывороткой крови свиней. Несмотря на различные по размеру колонии, преобладают круглые формы с ровными краями и отчетливо оформленным и более плотным оптическим центром, что придает им характерный для микоплазм вид «яичницы-глазуньи».

Результаты исследований по изучению ростовых свойств БКПС, в состав которой входит сыворотка крови КРС, для выращивания *Mycoplasma synoviae* показали, что время культивирования составляет не менее 140 ч при концентрации сыворотки в среде 12 и 15% и 138 ч при концентрации 20–25% (табл. 2). При накоплении биомассы *Mycoplasma synoviae* также сле-

дует учитывать, что данный вид микоплазм относится к труднокультивируемым микроорганизмам и обладает меньшей адаптивной способностью по сравнению с *Mycoplasma gallisepticum*.

Аналогично результатам, полученным при изучении ростовых свойств БКПС для выращивания *Mycoplasma gallisepticum*, при использовании клона *Mycoplasma synoviae* на 7–9-м пассажах наблюдали сокращение времени культивирования до 96 ч. Агглютинирующая активность культуры *Mycoplasma synoviae* и концентрация жизнеспособных клеток повышалась с увеличением концентрации сыворотки крови КРС в среде от 12 до 20% и находились в диапазоне от 2,0 до 3,0 log₂ и 10³–10⁴ КОЕ/см³ соответственно. При этом активность культуры, выращенной на среде Фрея с сывороткой крови свиней (12%), составляла 5,0 log₂, а значение КОЕ было равно 10⁶ на 1 см³, что достоверно указывает на явные преимущества использования сыворотки крови свиней в БКПС для культивирования *Mycoplasma synoviae*.

На рисунке 3 представлен результат культивирования *Mycoplasma synoviae* на плотной БКПС с сывороткой крови КРС (6-е сут культивирования). Выросшие колонии имеют мелкие размеры, их диаметр не превышает 0,1 мм, оптически плотный центр в их структуре отсут-

Рис. 3. Культура *Mycoplasma synoviae*, выращенная на БКПС с сывороткой крови КРС (увеличение 200х)Fig. 3. *Mycoplasma synoviae* grown on the cell-free nutrient medium supplemented with bovine blood serum (200× magnification)Рис. 4. Культура *Mycoplasma synoviae*, выращенная на БКПС с сывороткой крови свиней (увеличение 200х)Fig. 4. *Mycoplasma synoviae* grown on the cell-free nutrient medium supplemented with porcine blood serum (200× magnification)

ствуется. На микрофотографии рисунка 4 изображены колонии *Mycoplasma synoviae*, выращенные на среде с сывороткой крови свиней (6-е сут после посева). Колониям свойственен вид «яичницы-глазуньи», они более крупные – до 0,2 мм в диаметре.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что ростовые свойства питательных сред для культивирования патогенных микоплазм зависят от вида сыворотки крови в их составе. Отмечено, что увеличение ее концентрации стимулировало рост биомассы при сокращении продолжительности времени культивирования. Использование сыворотки крови свиней в составе питательной среды в концентрации 12% обеспечило получение более активной биомассы как по концентрации жизнеспособных клеток, так и по гемоглинирующей и агглютинирующей активности культуры при минимальном времени культивирования, равном 78–96 ч.

Для установления причины низких ростовых свойств питательной среды с добавлением сыворотки крови КРС провели сравнительный анализ некоторых биохимических показателей сыворотки крови свиней и КРС (табл. 3) [18].

Несмотря на то что в сыворотке крови свиней и КРС содержится сопоставимое количество холестерина, у КРС присутствует большое количество липопротеинов высокой плотности, характеризующихся значительно низким содержанием холестерина и фосфолипидов [19]. Таким образом, сыворотка с высоким содержанием указанных липопротеинов может не удовлетворять потребности микоплазм в жирных кислотах и холестерине. В сыворотке крови свиней, напротив, содержатся преимущественно липопротеины низкой плотности, которые активно переносят холестерин и жирные кислоты, способные частично осаждаться без участия внешнего воздействия. Известно, что возбудители микоплазмозов нуждаются в данных компонентах и сыворотка крови свиней восполняет необходимость в данных соединениях при культивировании микоплазм на БКПС [14, 20].

Также из представленных данных видно, что содержание каротина в сыворотке крови КРС превосходит его концентрацию в сыворотке крови свиней от 5 до 20 раз, а ретинола – в 3 раза. Учитывая, что рассматриваемые компоненты являются сильнейшими антиоксидантами, они могут замедлять окислительные процессы в клетках, тем самым увеличивая период интерфазы или замедляя процесс накопления ресурсов для нормального деления клеток, тем самым инициируя появление нежизнеспособных клеток микоплазм. Близкое к нулю значение содержания каротина в сыворотке крови свиней исключает риски, связанные с потенциальным его воздействием на рост и репродукцию молликут.

Результаты исследования указывают на то, что сыворотка крови свиней является значимым ростовым компонентом для культивирования *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae* и обеспечивает получение более активной биомассы в среде.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что для оптимального роста культуры микроорганизмов *Mycoplasma synoviae* и *Mycoplasma gallisepticum* наиболее подходящими ростовыми свойствами обла-

Таблица 3

Биохимические показатели сыворотки крови КРС и свиней

Table 3

Biochemical parameters of the bovine and porcine blood sera

Показатели	Крупный рогатый скот	Свиньи
Холестерин в сыворотке: мг/100 мл ммоль/л	50–170 1,30–4,42	60–110 1,56–2,86
Каротин в сыворотке: мкг/100 мл мг/л	500–2000 5,0–20,0	0–10 0–0,1
Витамин А в сыворотке: мкг/100 мл мкмоль/л	30–90 1,05–3,14	10–35 0,35–1,22

дает БКПС, в состав которой входит сыворотка крови свиней. Среда с добавлением сыворотки крови КРС также может использоваться для культивирования данных видов молликут, но она не обеспечивает тех ростовых свойств, что БКПС с сывороткой крови свиней.

Низкие ростовые свойства среды, приготовленной с использованием сыворотки крови КРС, вероятнее всего, связаны с ее биохимическим составом, которая содержит в 5–20 раз больше провитамина А, нежели сыворотка крови свиней, а холестерин в основном представлен липопротеинами высокой плотности. Напротив, в сыворотке крови свиней большая часть липопротеинов имеет низкую плотность, содержащих большое количество жирных кислот и холестерина, которые и являются основными структурными элементами клеток микоплазм, в частности для цитоплазматической мембраны, которые обеспечивают ее текучесть. Высокое содержание каротина в сыворотке крови КРС может увеличивать период интерфазы при репродукции микоплазм.

Концентрация сыворотки крови свиней в БКПС на уровне 12% является оптимальной для получения культуры с высокой биологической активностью при непродолжительном времени культивирования (72–96 ч).

Адаптация *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae* к БКПС с добавлением сыворотки крови КРС до 9-го пассажа не позволила получить биомассу с активностью, аналогичной для среды с сывороткой крови свиней, что следует учитывать при крупномасштабном культивировании данных видов молликут.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борхсениус С. Н., Чернова О. А. Микоплазмы: Молекулярная и клеточная биология, патогенность, диагностика. Л.: Наука; 1989. 156 с.
2. Каган Г. Я., Раковская И. В. Микоплазма-инфекция в культурах ткани. Ленинград: Медицина; 1968; 161.
3. Прозоровский С. В., Раковская И. В., Вульфвич Ю. В. Медицинская микоплазмология. М.: Медицина; 1995. 286 с.
4. Прозоровский С. В., Пронин А. В., Санин А. В. Иммунологические механизмы персистенции микоплазм. *Вестник Академии медицинских наук СССР*. 1985; 10: 43–51. PMID: 4082756.
5. Yadav J. P., Tomar P., Singh Y., Khurana S. K. Insights on *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in poultry: a systematic review. *Anim. Biotechnol.* 2021; DOI: 10.1080/10495398.2021.1908316.
6. Gautier-Bouchardon A. V. Antimicrobial resistance in *Mycoplasma* spp. *Microbiol. Spectr.* 2018; 6 (4). DOI: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0030-2018.
7. Бессарабов Б. Ф. Болезни сельскохозяйственной птицы. М.: Колос; 1970; 80–82.
8. Малушко В. В. Борьба с инфекционными болезнями в промышленном птицеводстве. *Ветеринария*. 1982; 5: 36–37.

9. Бессарабов Б. Ф., Василевич Ф. И., Мельникова И. И. и др. Практикум по болезням птиц. М.: КолосС; 2005. 200 с.
10. Микоплазмозы животных. Под ред. Я. Р. Коваленко. М.: Колос; 1976. 304 с.
11. Kleven S. H. *Mycoplasma synoviae* infection. In: *Diseases of Poultry*. Ed. by Y. M. Saif, H. J. Barnes, J. R. Glisson, A. M. Fadly, L. R. McDougald, D. E. Swayne. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003; 756–766.
12. Ирза В. Н. Инфекционный синовит птиц – эпизоотология и профилактика. *Птицеводство*. 2009; 11: 39–40. eLIBRARY ID: 17089360.
13. Коровин Р. Н., Зеленский В. П., Грошева Г. А. Лабораторная диагностика болезней птиц: справочник. М.: Агропромиздат; 1989; 172–174.
14. Kulappu Arachchige S. N., Kanci Condello A., Zhu L., Shil P. K., Tivendale K. A., Underwood G. J., et al. Effects of immunosuppression on the efficacy of vaccination against *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. *Vet. Microbiol.* 2021; 260:109182. DOI: 10.1016/j.vetmic.2021.109182.
15. Ирза В. Н., Сорокина М. И., Черняева Т. Ю., Волков М. С., Жалин М. В. Методика освежения и поддержания производства штамма *Mycoplasma gallisepticum* «S6». Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ»; 2006. 7 с.
16. Ирза В. Н., Волков М. С., Черняева Т. Ю., Сорокина М. И., Колотилова А. Н. Методика освежения и поддержания производства штамма *Mycoplasma synoviae* «WVU 1853». Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ»; 2006. 7 с.
17. Черняева Т. Ю., Сорокина М. И., Козлов Д. А., Волков М. С. Методические рекомендации по определению геммагглютинирующей активности возбудителя респираторного микоплазмоза птиц (*Mycoplasma gallisepticum*): утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 23.12.2020 № 95-20. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2020. 29 с.
18. Гирин М. В., Борисов А. В., Кулаков В. Ю., Сорокина М. И., Ирза В. Н. Измерение роста *Mycoplasma gallisepticum*. *Достижения молодых ученых – в ветеринарную практику: материалы конференции молодых ученых (16–18 ноября 2000 г.)*. Владимир: ВНИИЗЖ; 2000; 38–42.
19. Кондрахин И. П., Таланов Г. А., Пак В. В. Внутренние незаразные болезни животных: учебник. М.: КолосС; 2003. 461 с.
20. Мотузко И. С., Хвостова О. В. Возрастная динамика липопропротеидов сыворотки крови крупного рогатого скота. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2003; 2 (4): 116–118. Режим доступа: https://www.elib.vsmu.by/bitstream/123/8975/1/vVG-MU_2003_4_116-118.pdf.
21. Липопротеины. Виды и физиология липопропротеинов. *MedUniver*. Режим доступа: <https://meduniver.com/Medical/Physiology/1184.html> (дата обращения: 27.08.2021).
22. Borchsenius S. N., Chernova O. A. *Mycoplasmas: molecular and cellular biology, pathogenesis, diagnostics*. Leningrad: Nauka; 1989. 156 p. (in Russ.)
23. Kagan G. Ya., Rakovskaya I. V. *Mycoplasma* infection in tissue cultures. Leningrad: Meditsina; 1968; 161. (in Russ.)
24. Prozorovskii S. V., Rakovskaya I. V., Vulfovich Yu. V. *Medical mycoplasmaology*. Moscow: Meditsina; 1995. 286 p. (in Russ.)
25. Prozorovskii S. V., Pronin A. V., Sanin A. V. Immunologicheskie mekhanizmy persistentsii mikoplazm = Immunologic mechanisms of the persistence of *Mycoplasma*. *Vestnik Akademii Meditsinskikh Nauk SSSR*. 1985; 10: 43–51. PMID: 4082756. (in Russ.)
26. Yadav J. P., Tomar P., Singh Y., Khurana S. K. Insights on *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in poultry: a systematic review. *Anim. Biotechnol.* 2021; DOI: 10.1080/10495398.2021.1908316.
27. Gautier-Bouchardon A. V. Antimicrobial resistance in *Mycoplasma* spp. *Microbiol. Spectr.* 2018; 6 (4). DOI: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0030-2018.
28. Bessarabov B. F. *Poultry diseases*. Moscow: Kolos; 1970; 80–82. (in Russ.)
29. Malushko V. V. Bor'ba s infektsionnymi boleznyami v promyshlennom pitsevodstve = Infectious disease control in commercial poultry production. *Veterinariya*. 1982; 5: 36–37. (in Russ.)
30. Bessarabov B. F., Vasilevich F. I., Mel'nikova I. I., et al. Guide on avian diseases. Moscow: KolosS; 2005. 200 p. (in Russ.)
31. Animal mycoplasmoses. Ed. by Ya. R. Kovalenko. Moscow: Kolos; 1976. 304 p. (in Russ.)
32. Kleven S. H. *Mycoplasma synoviae* infection. In: *Diseases of Poultry*. Ed. by Y. M. Saif, H. J. Barnes, J. R. Glisson, A. M. Fadly, L. R. McDougald, D. E. Swayne. 11th ed. Ames: Iowa State University Press; 2003; 756–766.
33. Irza V. N. Infectious synovitis birds – epizootology and prevention. *Pitisevodstvo*. 2009; 11: 39–40. eLIBRARY ID: 17089360. (in Russ.)
34. Korovin R. N., Zelensky V. P., Grosheva G. A. Laboratory diagnosis of avian diseases: Reference guide. Moscow: Agropromizdat; 1989; 172–174. (in Russ.)
35. Kulappu Arachchige S. N., Kanci Condello A., Zhu L., Shil P. K., Tivendale K. A., Underwood G. J., et al. Effects of immunosuppression on the efficacy of vaccination against *Mycoplasma gallisepticum* infection in chickens. *Vet. Microbiol.* 2021; 260:109182. DOI: 10.1016/j.vetmic.2021.109182.
36. Irza V. N., Sorokina M. I., Chernyaeva T. Yu., Volkov M. S., Zhalin M. V., Kolotilov A. N. Methods for refreshing and maintaining the *Mycoplasma gallisepticum* "S6" production strain. Vladimir: FGI "ARRIAH"; 2006. 7 p. (in Russ.)
37. Irza V. N., Volkov M. S., Chernyaeva T. Yu., Sorokina M. I., Kolotilov A. N. Methods for refreshing and maintaining *Mycoplasma synoviae* "WVU 1853" production strain. Vladimir: FGI "ARRIAH"; 2006. 7 p. (in Russ.)
38. Chernyaeva T. Yu., Sorokina M. I., Kozlov D. A., Volkov M. S. Guidelines for the determination of hemagglutinating activity of the causative agent of avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*): approved by FGBI "ARRIAH". December 23, 2020. No. 95-20. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2020. 29 p. (in Russ.)
39. Girin M. V., Borisov A. V., Kulakov V. Yu., Sorokina M. I., Irza V. N. Izmerenie rosta *Mycoplasma gallisepticum* = *Mycoplasma gallisepticum* growth measurement. *Dostizheniya molodykh uchenykh – v veterinarnuyu praktiku: materialy konferentsii molodykh uchenykh (16–18 noyabrya 2000 g.) = Achievements of early carrier researchers – to veterinary practice: proceedings of the conference of early carrier researchers (November 16–18, 2000)*. Vladimir: ARRIA; 2000; 38–42. (in Russ.)
40. Kondrakhin I. P., Talanov G. A., Pak V. V. Internal non-communicable diseases of animals: a textbook. Moscow: KolosS; 2003. 461 p. (in Russ.)
41. Motuzko I. S., Khvostova O. V. Lipoprotein age dynamics of bovine blood serum. *Vestnik of Vitebsk State Medical University*. 2003; 2 (4): 116–118. Available at: https://www.elib.vsmu.by/bitstream/123/8975/1/vVG-MU_2003_4_116-118.pdf. (in Russ.)
42. Lipoproteiny. Vidy i fiziologiya lipoproteinov = Lipoproteins. Types and physiology of lipoproteins. *MedUniver*. Available at: <https://meduniver.com/Medical/Physiology/1184.html> (date of access: 27.08.2021). (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 02.03.2022

Поступила после рецензирования / Revised 15.04.2022

Принята к публикации / Accepted 18.05.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Козлов Дмитрий Александрович, аспирант, ведущий ветеринарный врач лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Черняева Татьяна Юльевна, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Сорокина Марина Ивановна, ведущий биолог лаборатории эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Dmitry A. Kozlov, Post-Graduate Student, Leading Veterinarian, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

Tatyana Yu. Chernyaeva, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Marina I. Sorokina, Leading Biologist, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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



Криоконсервирование первично трипсинизированных клеток фибробластов эмбрионов кур с использованием разных криопротекторов

С. П. Лазарева¹, Б. Л. Манин², Н. С. Мудрак³, Д. Б. Андрейчук⁴

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-9540-0001>, e-mail: lazareva@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-5253-1491>, e-mail: manin_bl@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-9788-9197>, e-mail: mudrak@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-1681-5795>, e-mail: andreychuk@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Криоконсервирование является оптимальным способом хранения клеток при сверхнизких температурах. Для уменьшения гибели клеток от воздействия низких температур к суспензии клеточной культуры добавляют криопротекторы. Сочетания различных криопротекторов образуют криозащитные среды. В качестве криопротекторов могут быть применены этиленгликоль, глицерин, диметилсульфоксид, сахароза, декстран, пропиленгликоль, альбумин, поливинилпирролидон и сыворотка крови. При проведении работ по криоконсервированию необходимо подобрать криопротектор, обеспечивающий наибольшую выживаемость клеток после хранения и оттаивания. В данной статье представлены результаты экспериментов по сравнению эффективности диметилсульфоксида, этиленгликоля и глицерина при криоконсервировании первично трипсинизированных клеток фибробластов эмбрионов кур. В результате эквипробации клеточной суспензии (инкубирования при комнатной температуре) с сывороткой и указанными криопротекторами разных концентраций для замораживания были выбраны варианты суспензий, содержащие различные соотношения криопротекторов и сыворотки. Ранее было установлено, что по истечении 12 месяцев наблюдения при использовании в качестве криопротектора диметилсульфоксида наибольшее количество выживших клеток (46%) наблюдалось в суспензии, содержащей 20% фетальной сыворотки и 10% диметилсульфоксида. Количество выживших клеток при наличии в составе криозащитной смеси 10% фетальной сыворотки и 5% этиленгликоля было несколько ниже и составило 36% по истечении 12 месяцев наблюдения. Было показано, что глицерин обладает слабыми протективными свойствами по отношению к клеткам фибробластов эмбрионов кур. Спустя 8 месяцев хранения количество выживших клеток в суспензии, содержащей 10% сыворотки и 5% глицерина, составило 22%, при последующем хранении живых клеток в данной смеси не выявляли. Пролиферативные свойства клеток и чувствительность их к вирусам сохранялись на протяжении 12 месяцев эксперимента.

Ключевые слова: криоконсервирование, клетки фибробластов эмбрионов кур, криопротекторы

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

Для цитирования: Лазарева С. П., Манин Б. Л., Мудрак Н. С., Андрейчук Д. Б. Криоконсервирование первично трипсинизированных клеток фибробластов эмбрионов кур с использованием разных криопротекторов. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 163–168. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-163-168.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Лазарева Светлана Петровна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: lazareva@arriah.ru.

Cryopreservation of primary trypsinized fibroblast cells of chicken embryos using various cryoprotectants

S. P. Lazareva¹, B. L. Manin², N. S. Mudrak³, D. B. Andreychuk⁴

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-9540-0001>, e-mail: lazareva@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-5253-1491>, e-mail: manin_bl@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-9788-9197>, e-mail: mudrak@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-1681-5795>, e-mail: andreychuk@arriah.ru

SUMMARY

Cryopreservation is the optimal way to store cells at ultra-low temperatures. Cryoprotectants are added to cell culture suspension to reduce cell death due to exposure to low temperatures. Cryoprotective media contain combinations of various cryoprotectants. Ethylene glycol, glycerin, dimethyl sulfoxide, sucrose, dextran, propylene glycol, albumin, polyvinylpyrrolidone and blood serum can be used as cryoprotectants. For cryopreservation it is necessary to select a cryoprotectant that

ensures the highest survival of cells after storage and thawing. The paper presents the results of experiments on comparing the effectiveness of dimethyl sulfoxide, ethylene glycol and glycerin in cryopreservation of primary trypsinized chicken embryo fibroblasts. As a result of cell suspension equilibration (incubation at room temperature) with serum and the specified cryoprotectants at different concentrations, the suspension variants containing different cryoprotectant and serum ratios were selected for freezing. Previously, it was found that after 12 months of observation, when using dimethyl sulfoxide as a cryoprotectant, the largest number of surviving cells (46%) was observed in a suspension containing 20% fetal serum and 10% dimethyl sulfoxide. The amount of surviving cells if 10% fetal serum and 5% ethylene glycol were included in the cryoprotective mixture was slightly lower and amounted to 36% after 12 months of observation. Glycerin is shown to have weak protective properties as regards chicken embryo fibroblast cells. After 8 months of storage, the amount of surviving cells in a suspension containing 10% serum and 5% glycerin was 22%, no live cells were found in this mixture if stored longer. The proliferative properties of cells and their sensitivity to viruses remained within the 12 months of the experiment.

Keywords: cryopreservation, chicken embryo fibroblast cells, cryoprotectants

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

For citation: Lazareva S. P., Manin B. L., Mudrak N. S., Andreychuk D. B. Cryopreservation of primary trypsinized fibroblast cells of chicken embryos using various cryoprotectants. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 163–168. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-163-168.

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

For correspondence: Svetlana P. Lazareva, Candidate of Science (Biology), Junior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBl "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: lazareva@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Криоконсервирование широко используется для длительного хранения живых клеток, тканей, органелл, органов и целых организмов при сверхнизких температурах в течение длительного периода времени (от нескольких месяцев до нескольких лет). В частности, криоконсервирование является оптимальным способом хранения культур клеток желудочно-кишечных [1] и других живых организмов, спермы и эмбрионов млекопитающих и т. д. Также проведен ряд работ по усовершенствованию методов замораживания репродуктивного материала рыб [2, 3]. В последние годы разрабатываются и совершенствуются методы криоконсервирования клеток и тканей человека. Так, сотрудниками ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства» (г. Санкт-Петербург) был усовершенствован безаппаратный метод криоконсервирования эритроцитов [4]. Учеными Японии был разработан метод криоконсервирования культуры эндотелиальных клеток роговицы глаза человека [5].

Немаловажными являются и разработки по криоконсервированию культур клеток животных и изучению биологических свойств клеток, подвергавшихся заморозке. Сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир) были разработаны методы криоконсервирования перевиваемой культуры клеток ВНК-21, первично трипсинизированной культуры клеток фибробластов эмбрионов кур (ФЭК), содержащей вирус болезни Марек, первичной культуры клеток костного мозга свиней [6–8]. Специалистами ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (г. Казань) была проведена работа по изучению биологических свойств перевиваемой культуры клеток легких эмбриона крупного рогатого скота (ЛЕК), подвергнутой криоконсервированию в течение продолжительного времени [9]. Кроме того, опубликованы результаты исследования по криоконсервированию клеток фибробластов эмбрионов кур бройлерной породы [10].

Для проведения работ по криоконсервированию культур клеток важным аспектом является оптимальный подбор криопротектора – вещества, защищающего клетки от повреждающего действия заморозки [6, 11]. Существует два типа криопротекторов: проникающие, которые поступают внутрь клетки (диметилсульфоксид – ДМСО, глицерин, этиленгликоль, пропиленгликоль), и непроникающие, которые создают внешнюю защитную среду для клетки (сахароза, декстран, альбумин, поливинилпирролидон) [11–14]. В сочетании с криопротектором применяются стабилизаторы, которыми чаще всего являются сыворотки крови [6–8, 13]. Известно об использовании в качестве криозащитной среды для клеток фибробластов человека смеси эмбриональной сыворотки, ДМСО и наночастиц золота [15]. В ходе разработки методов криоконсервирования разных видов культур клеток были получены результаты, отражающие высокую степень выживаемости клеток (первичных – около 58%, перевиваемых – более 90%) после замораживания [2, 12]. Существует очень много комбинаций консервирующих сред. Наиболее часто на практике применяется смесь клеточной суспензии, сыворотки и криопротектора [6–8].

Культура клеток ФЭК имеет важное практическое значение в вирусологии и биологической промышленности, поэтому поиск новых, оптимальных комбинаций консервирующих сред при заморозке клеток остается актуальным. Ранее была проведена работа по подбору оптимального сочетания ДМСО и сыворотки для криоконсервирования первично трипсинизированных клеток ФЭК [16], однако с другими криопротекторами подобные исследования не проводились.

Цель данной работы заключалась в изучении защитных свойств различных криопротекторов при криоконсервировании первично трипсинизированных клеток ФЭК и сравнении их эффективности. При этом оценивались такие показатели, как выживаемость клеток после хранения при сверхнизких температурах, пролиферативные свойства и восприимчивость клеток к вирусам после замораживания.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи: выбор сочетания криопротектор-стабилизатор, не являющегося токсичным для клеток; изучение защитных свойств криопротекторов для заморозки суспензии клеток ФЭК, а также изучение пролиферативных свойств и чувствительности культуры клеток к вирусам после заморозки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выбор оптимального соотношения сыворотки и криопротекторов, добавляемых к клеточной суспензии. Клеточную суспензию ФЭК для замораживания получали согласно разработанным ранее методам [16, 17]. В качестве криопротекторов применяли ДМСО (Carl Roth, Германия), глицерин (ЗАО «Химреактив», Россия) и этиленгликоль (ЗАО «Химреактив», Россия). Далее готовили комбинации смесей из клеточной суспензии, указанных криопротекторов и фетальной сыворотки (Bio-Clot, Бразилия), используемой в качестве стабилизатора. В таблице 1 приведены варианты криозащитных смесей, включающих разные сочетания криопротекторов и фетальной сыворотки (в процентах от объема суспензии).

Затем проводили эквilibрацию клеточной смеси (инкубирование при комнатной температуре) с криопротекторами и сывороткой, после чего подготовленные для криоконсервирования суспензии закладывали на хранение.

Оценка жизнеспособности клеток после оттаивания. Данный этап проводили согласно методу, разработанному ранее [16].

Изучение чувствительности к вирусам клеток ФЭК, подвергавшихся криоконсервированию. Испытуемые культуры клеток заражали референтным штаммом ALV-J ADOL-HCI-P7 вируса лейкоза птиц 3-го пассажа (Лаборатория онкологии и болезней птиц, США). По истечении срока инкубации накопление вируса определяли иммуноферментным методом (ИФА) по концентрации вирусспецифического белка p27 с помощью коммерческого набора ProFLOK ALV Plus Ag (Zoetis, США) согласно инструкции по применению [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Работа по сравнению эффективности различных криопротекторов и оптимизации условий криокон-

Таблица 1

Образцы суспензии клеток ФЭК с добавлением криозащитных веществ

Table 1

Samples of CEF cell suspension supplemented with cryoprotective agents

	10% сыворотки				20% сыворотки			
Содержание ДМСО	5%	10%	15%	20%	5%	10%	15%	20%
Содержание глицерина	5%	10%	15%	20%	5%	10%	15%	20%
Содержание этиленгликоля	5%	10%	15%	20%	5%	10%	15%	20%

сервирования клеток ФЭК включала в себя следующие этапы: подбор оптимальных соотношений криопротекторов в смеси для консервирования; изучение жизнеспособности и пролиферативных свойств клеток в результате хранения при минус 150 °С в течение 12 месяцев.

Для выполнения первого этапа была проведена эквilibрация суспензий клеток ФЭК, содержащих приведенные выше сочетания криозащитных веществ (табл. 1). Концентрация клеток в исходной клеточной суспензии составила $(1,10 \pm 0,01) \times 10^7$ кл/см³. Результаты работы приведены в таблице 2.

Исходя из полученных результатов, наибольшая выживаемость клеток (70–100%) наблюдалась в следующих вариантах суспензий для криоконсервирования: 1) 10% сыворотки и 5% ДМСО (97% выживших клеток); 2) 10% сыворотки и 10% ДМСО (97% выживших клеток); 3) 10% сыворотки и 15% ДМСО (100% выживших клеток); 4) 20% сыворотки и 5% ДМСО (97% выживших клеток); 5) 20% сыворотки и 10% ДМСО (100% выживших клеток); 6) 20% сыворотки и 15% ДМСО (89% выживших клеток); 7) 10% сыворотки и 5% глицерина (90% выживших клеток); 8) 10% сыворотки и 5% этиленгликоля (74% выживших клеток).

В остальных образцах количество выживших клеток составляло менее 70%.

Большая часть перечисленных образцов (6 шт.) включала в себя различные соотношения ДМСО и фетальной сыворотки. При эквilibрации клеток ФЭК с этиленгликолем и глицерином для дальнейших

Таблица 2

Концентрация клеток в суспензиях для криоконсервирования после эквilibрации, кл/см³ (n = 3)

Table 2

Cell concentration in suspensions for cryopreservation after equilibration, cells/cm³ (n = 3)

10% сыворотки				
Криопротекторы	5%	10%	15%	20%
ДМСО	$(1,07 \pm 0,06) \times 10^7$	$(1,07 \pm 0,06) \times 10^7$	$(1,10 \pm 0,00) \times 10^7$	$(6,67 \pm 0,30) \times 10^6$
Глицерин	$(1,00 \pm 0,10) \times 10^7$	$(7,20 \pm 0,26) \times 10^6$	$(6,23 \pm 0,32) \times 10^6$	$(3,26 \pm 0,38) \times 10^6$
Этиленгликоль	$(8,17 \pm 0,15) \times 10^6$	$(7,60 \pm 0,30) \times 10^6$	$(7,60 \pm 0,30) \times 10^6$	$(6,70 \pm 0,17) \times 10^6$
20% сыворотки				
	5%	10%	15%	20%
ДМСО	$(1,07 \pm 0,06) \times 10^7$	$(1,10 \pm 0,00) \times 10^7$	$(0,98 \pm 0,1) \times 10^7$	$(7,20 \pm 0,46) \times 10^6$
Глицерин	$(8,17 \pm 0,29) \times 10^6$	$(5,63 \pm 0,47) \times 10^6$	$(3,87 \pm 0,3) \times 10^6$	$(2,60 \pm 0,36) \times 10^6$
Этиленгликоль	$(6,90 \pm 0,00) \times 10^6$	$(6,80 \pm 0,17) \times 10^6$	$(6,03 \pm 0,15) \times 10^6$	$(6,60 \pm 0,26) \times 10^6$

исследований было выбрано по одному образцу из каждой группы. Перечисленные варианты клеточной суспензии были выбраны для исследования жизнеспособности клеток ФЭК в процессе хранения при температуре минус 150 °С. Аликвоты смесей для криоконсервирования, содержащие суспензии клеток, криопротекторы и фетальную сыворотку, объемом 4 см³ помещали в пенопластовый термоконтейнер и закладывали на хранение в низкотемпературный морозильник при температуре минус 150 °С [16]. Такой метод обеспечивал охлаждение суспензии со скоростью около 1 °С/мин [12]. Оттаивание, подсчет клеток и высев в культуральные флаконы осуществляли с интервалом в один месяц. Данный этап работы проводили в течение 12 месяцев. Результаты по исследованию выживаемости клеток в результате криоконсервирования минус 150 °С приведены в таблице 3.

Согласно исследованиям, проведенным ранее, наибольшая степень выживаемости первично трипсинизированных клеток ФЭК варьировала от 53 до 71% [16]. По истечении 12 месяцев хранения максимальное количество выживших клеток (46%) наблюдалось при комбинации в клеточной суспензии сыворотки в количестве 20% от объема и ДМСО в количестве 10% от объема. В суспензии, содержащей сыворотку и этиленгликоль в концентрациях 10 и 5% соответственно, количество выживших клеток снизилось до 36%, однако по сравнению с остальными образцами, содержащими различные сочетания ДМСО и сыворотки,

данный показатель был выше. В остальных суспензиях, содержащих ДМСО и фетальную сыворотку, количество живых клеток уменьшилось до 18–26% по истечении 12 месяцев хранения. В образце суспензии, содержащем 10% сыворотки и 5% глицерина, количество живых клеток снизилось до 22% в течение 8 месяцев. По истечении 9 месяцев хранения живых клеток в данном образце выявлено не было. Наименьшее количество выживших клеток наблюдалось в образце, содержащем 10% сыворотки и 15% ДМСО. По истечении одного месяца хранения в данном образце выявили 24% живых клеток, в течение последующих 4 месяцев хранения процент выживших клеток снизился до 19%. По истечении 6 месяцев хранения живых клеток в данной смеси выявлено не было.

Далее проводили изучение пролиферативных свойств клеток ФЭК, подвергавшихся криоконсервированию. После размораживания и подсчета клетки каждого образца разбавляли ростовой средой до концентрации 600 тыс. кл/см³ и высевали в культуральные флаконы. Ежедневно проводили микроскопическое исследование монослоя, отмечали длительность формирования и степень покрытия рабочей поверхности флакона, которую оценивали в процентах [16].

На рисунке 1 отражены данные, полученные после 1, 3, 6, 9, 12 месяцев хранения. В образцах, содержащих 10% сыворотки и 15% ДМСО, а также 10% сыворотки и 5% глицерина, поверхность флакона была покрыта монослоем не более чем на 50%. В остальных случа-

Таблица 3

Выживаемость клеток ФЭК после хранения при минус 150 °С с применением разных образцов криопротекторов (n = 3)

Table 3

Survivability of CEF cells after storage at minus 150 °C using different cryoprotectant samples (n = 3)

Срок хранения, мес.	10% сыворотки и 5% ДМСО	10% сыворотки и 10% ДМСО	10% сыворотки и 15% ДМСО	20% сыворотки и 5% ДМСО	20% сыворотки и 10% ДМСО	20% сыворотки и 15% ДМСО	10% сыворотки и 5% глицерина	10% сыворотки и 5% этиленгликоля
До хранения	10,0 ± 0,1	13,0 ± 0,1	9,0 ± 0,2	11,0 ± 0,3	8,0 ± 0,1	12,0 ± 0,3	8,0 ± 0,1	8,0 ± 0,1
1	3,3 ± 0,4 (33%)	4,9 ± 0,3 (37%)	2,9 ± 0,2 (24%)	4,2 ± 0,4 (38%)	5,2 ± 0,3 (65%)	5,7 ± 0,4 (47%)	2,7 ± 0,2 (34%)	4,3 ± 0,2 (52%)
2	2,9 ± 0,3 (29%)	4,3 ± 0,4 (33%)	2,9 ± 0,2 (24%)	4,0 ± 0,3 (36%)	4,9 ± 0,1 (61%)	4,9 ± 0,3 (41%)	2,5 ± 0,2 (31%)	3,5 ± 0,5 (43%)
3	2,9 ± 0,1 (29%)	4,0 ± 0,4 (31%)	2,1 ± 0,2 (23%)	4,0 ± 0,2 (36%)	4,6 ± 0,1 (57%)	4,8 ± 0,5 (40%)	2,5 ± 0,1 (31%)	3,3 ± 0,5 (41%)
4	2,8 ± 0,3 (28%)	3,0 ± 0,4 (23%)	2,1 ± 0,1 (23%)	4,0 ± 0,3 (36%)	4,3 ± 0,2 (54%)	4,2 ± 0,4 (35%)	2,4 ± 0,1 (30%)	3,3 ± 0,2 (41%)
5	2,6 ± 0,4 (26%)	3,0 ± 0,2 (23%)	1,7 ± 0,3 (19%)	4,0 ± 0,2 (36%)	4,3 ± 0,2 (54%)	4,1 ± 0,4 (34%)	2,1 ± 0,1 (26%)	3,2 ± 0,2 (40%)
6	2,5 ± 0,2 (25%)	3,0 ± 0,3 (23%)	0	4,0 ± 0,3 (36%)	4,2 ± 0,1 (52%)	4,0 ± 0,3 (33%)	2,1 ± 0,3 (26%)	3,1 ± 0,4 (39%)
7	2,3 ± 0,2 (23%)	3,0 ± 0,2 (23%)	0	4,0 ± 0,2 (36%)	4,0 ± 0,2 (50%)	4,0 ± 0,1 (33%)	2,0 ± 0,3 (25%)	3,0 ± 0,2 (37%)
8	2,2 ± 0,1 (22%)	3,0 ± 0,1 (23%)	0	3,8 ± 0,2 (34%)	4,0 ± 0,3 (50%)	3,9 ± 0,3 (32%)	1,8 ± 0,3 (22%)	3,0 ± 0,3 (37%)
9	2,0 ± 0,1 (20%)	3,0 ± 0,3 (23%)	0	3,5 ± 0,4 (32%)	3,9 ± 0,2 (49%)	3,9 ± 0,1 (32%)	0	3,0 ± 0,1 (37%)
10	1,8 ± 0,1 (18%)	3,0 ± 0,1 (23%)	0	3,5 ± 0,2 (32%)	3,9 ± 0,1 (49%)	3,7 ± 0,3 (31%)	0	3,0 ± 0,1 (37%)
11	1,8 ± 0,3 (18%)	2,9 ± 0,4 (22%)	0	3,2 ± 0,2 (29%)	3,8 ± 0,2 (47%)	3,6 ± 0,1 (30%)	0	2,9 ± 0,2 (36%)
12	1,8 ± 0,1 (18%)	2,3 ± 0,4 (18%)	0	2,9 ± 0,3 (26%)	3,7 ± 0,1 (46%)	3,2 ± 0,3 (26%)	0	2,9 ± 0,1 (36%)

ях с 1-го по 11-й месяц хранения степень покрытия поверхности культурального флакона монослоем клеток ФЭК составляла 90–100%. По завершении 12 месяцев хранения данный показатель составил 80%. Полученные значения являются оптимальными для образования полноценного монослоя культуры клеток.

Время формирования монослоя из всех образцов клеток ФЭК составляло 2–3 сут, что является оптимальным сроком для данного процесса.

Завершающим этапом данной работы было изучение восприимчивости к вирусам клеток ФЭК после воздействия низких температур. Клетки ФЭК, хранившиеся при температуре минус 150 °С, оттаивали и высевали в культуральные флаконы для формирования монослоя. Одновременно в качестве контроля использовали первично трипсинизированную культуру клеток ФЭК. Сформированный монослой заражали референтным штаммом вируса лейкоза птиц ALV-J ADOL-HCI-P7. Образцы клеточной суспензии, содержащие 10% сыворотки и 15% ДМСО, а также 10% сыворотки и 5% глицерина, не использовались для проведения данного этапа работы ввиду слабых пролиферативных свойств. По окончании срока инкубации измеряли концентрацию вирусспецифического белка p27 с помощью сэндвич-ИФА.

На рисунке 2 в качестве примера приведены данные, полученные после 1, 3, 6, 9, 12 месяцев хранения образцов клеток. Величина стандартного отклонения колебалась в пределах 0,2–0,4. Накопление вируса наблюдалось как в первично трипсинизированной культуре клеток ФЭК, так и в монослое, полученном из суспензии клеток ФЭК, подвергавшихся криоконсервированию. Концентрация вирусного белка составляла 5–8 мкг/см³. На протяжении всего срока исследования в ряде образцов наблюдалось незначительное снижение концентрации вирусного белка по сравнению с первично трипсинизированной культурой клеток ФЭК. Наименьшее расхождение данного показателя с величиной, полученной для первично трипсинизированной культуры клеток ФЭК, наблюдалось в образце, содержащем 10% сыворотки и 5% этиленгликоля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенной работы было выявлено, что для хранения суспензии клеток ФЭК в условиях глубокой заморозки наиболее оптимальными соотношениями сыворотки и криопротектора является сочетание 20% фетальной сыворотки и 10% ДМСО. В образце клеточной суспензии, содержащем 10% фетальной сыворотки и 5% этиленгликоля, количество выживших клеток было несколько ниже, однако оно превышало аналогичный показатель в других образцах. Добавление в клеточную суспензию глицерина не обеспечивало достаточной степени защиты клеток от разрушающего действия сверхнизких температур. Проллиферативные свойства клеток и чувствительность к вирусу лейкоза птиц сохранялись в следующих комбинациях криопротекторов: с содержанием 10% эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота и 5, 10% ДМСО, 20% эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота и 5, 10, 15% ДМСО, а также 10% эмбриональной сыворотки крови крупного рогатого скота и 5% этиленгликоля. Образцы криопротекторов, содержащие 10% сыворотки и 15% ДМСО, а также 10% сыворотки и 5% глицерина, показали наименьшие протективные свойства.

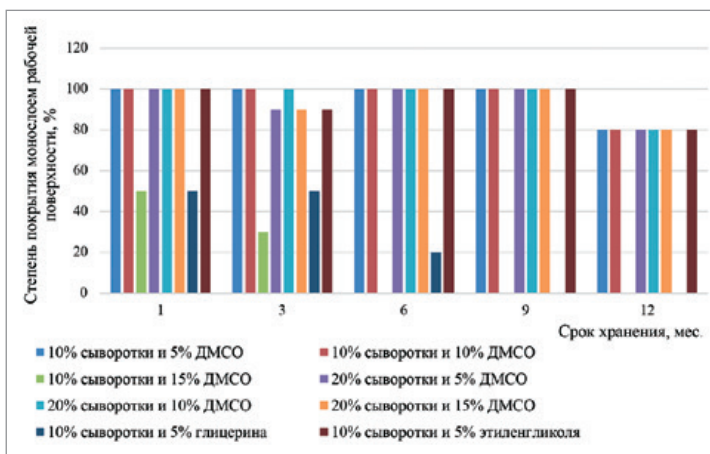


Рис. 1. Уровень образования (формирования) клеточного монослоя после разморозки

Fig. 1. Development (formation) of cell monolayer upon thawing

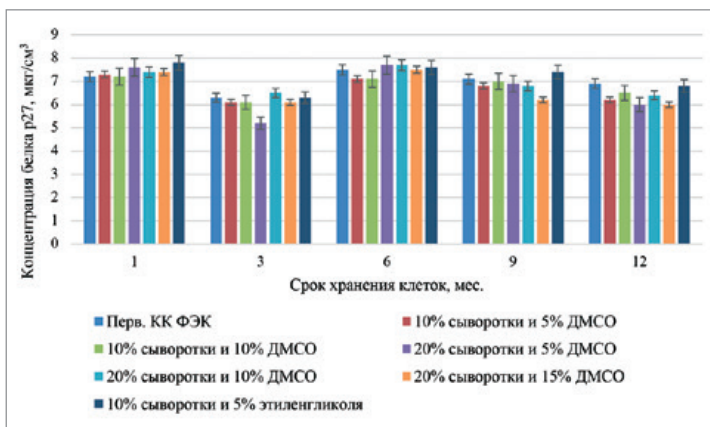


Рис. 2. Концентрация вирусного белка p27 после заражения образцов клеток ФЭК штаммом ALV-J ADOL-HCI-P7, мкг/см³ (n = 3)

Fig. 2. Concentration of p27 viral protein after infection of CEF cell samples with ALV-J ADOL-HCI-P7 strain, μg/cm³ (n = 3)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fricano C., Röttinger E., Furla P., Barnay-Verdier S. Cnidarian cell cryopreservation: A powerful tool for cultivation and functional assays. *Cells*. 2020; 9 (12):2541. DOI: 10.3390/cells9122541.
2. Белая М. М., Красильникова А. А., Пономарева Е. Н. Разработки Южного научного центра РАН в области криоконсервации репродуктивных клеток рыб. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2018; 20 (5-2): 280–286. eLIBRARY ID: 37118879.
3. Кибалова М. В., Селюкова С. А., Селюков А. Г. Сохранение ценных, редких и исчезающих видов животных. 2. Криоконсервация позвоночных. *Вестник Тюменского государственного университета. Экология и природопользование*. 2017; 3 (3): 141–157. DOI: 10.21684/2411-7927-2017-3-3-141-157.
4. Кирьянова Г. Ю., Четкин А. В., Гришина Г. В., Касьянов А. Д., Красильникова И. В. Усовершенствованный безаппаратный метод криоконсервирования эритроцитов. *Трансфузиология*. 2020; 21 (2): 115–128. eLIBRARY ID: 45825626.
5. Okumura N., Kagami T., Watanabe K., Kadoya S., Sato M., Koizumi N. Feasibility of a cryopreservation of cultured human corneal endothelial cells. *PLoS One*. 2019; 14 (6):e0218431. DOI: 10.1371/journal.pone.0218431.
6. Манин Б. Л. Криоконсервирование и культивирование клеточных линий – две фазы существования биологических объектов. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2008; 6: 390–405. eLIBRARY ID: 14933114.
7. Куренкова Е. В., Куляшбекова Ш. К. Криоконсервирование клеток, содержащих вирус болезни Марек. *Актуальные вопросы зоотехнической науки и практики как основа улучшения продуктивных качеств и здоровья сельскохозяйственных животных: материалы II Междуна-*

родной научно-практической конференции (г. Ставрополь, 22–24 октября 2003 г.). Ставрополь: Агрус; 2003; 349–354. eLIBRARY ID: 25608061.

8. Жуков И. Ю., Шевченко И. В., Власова Н. Н., Варенцова А. А., Маннин Б. Л., Пузанкова О. С. и др. Изучение репродукции вируса африканской чумы свиней на первичной культуре клеток костного мозга свиней до и после криоконсервирования. *Ветеринария сегодня*. 2016; (1): 7–15.

9. Плотникова Э. М., Архарова И. А., Самсонов А. И., Чурина З. Г. Изучение биологических свойств культуры клеток, подвергнутой длительной криоконсервации. *Ветеринарный врач*. 2018; 2: 7–11. eLIBRARY ID: 32786366.

10. Guan W., Wang D., Bai C., Zhang M., Li C., Ma Y. Biological characteristic of an embryonic fibroblast line from Xiaoshan chicken for genetic conservation. *Journal of Cell and Animal Biology*. 2012; 6 (4): 46–53. DOI: 10.5897/JCAB11.089.

11. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии). Под ред. Л. П. Дьяконова, В. И. Ситкова. М.: Спутник+; 2000. 400 с.

12. Цуцаева А. А., Петренко Т. Ф. Криоконсервация культивируемых клеток животных. В кн.: *Методы культивирования клеток: Сборник научных трудов*. Ред. Г. П. Пинаев. Л.: Наука; 1988; 63–69.

13. Криоконсервирование клеточных суспензий. Под ред. А. А. Цуцаевой. Киев: Наукова Думка; 1983. 240 с.

14. Greene A. E., Athreya B., Lehr H. B., Coriell L. L. Prolonged storage of cells in dimethyl sulphoxide and glycerol at varying temperatures. *Cryobiology*. 1967; 3 (5): 383–384. DOI: 10.1016/S0011-2240(67)80115-9.

15. Павлович Е. В., Волкова Н. А., Гольцев А. Н. Криоконсервирование фибробластов человека в присутствии наночастиц золота. *Теоретические и практические аспекты современной криобиологии: материалы Международной заочной научно-практической конференции (24 марта 2014 г.)*. Сыктывкар; 2014; 203–208. Режим доступа: <http://physiol.komisc.ru/kriokonf.pdf>.

16. Лазарева С. П., Маннин Б. Л. Криоконсервирование первично трипсинизированных клеток фибробластов кур. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2016; 14: 177–192. eLIBRARY ID: 30095812.

17. Старов С. К., Герасимова Н. И., Евсеев А. М., Сарбасов А. Б. Культивирование вакцинного штамма S1133 реовируса птиц в субкультуре клеток куриных фибробластов. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2005; 3: 400–405. eLIBRARY ID: 24397208.

REFERENCES

1. Fricano C., Röttinger E., Furla P., Barnay-Verdier S. Cnidarian cell cryopreservation: A powerful tool for cultivation and functional assays. *Cells*. 2020; 9 (12):2541. DOI: 10.3390/cells9122541.

2. Belaya M. M., Krasilinikova A. A., Ponomareva E. N. The developments of Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences in the field of cryopreservation of reproductive cells of fish. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj Akademii nauk*. 2018; 20 (5-2): 280–286. eLIBRARY ID: 37118879. (in Russ.)

3. Kibalova M. V., Selyukova S. A., Selyukov A. G. Preservation of valuable, rare and endangered species of animals. 2. Cryoconservation of the vertebrates. *Tyumen State University Herald. Natural Resource Use and Ecology*. 2017; 3 (3): 141–157. DOI: 10.21684/2411-7927-2017-3-3-141-157. (in Russ.)

4. Kiryanova G. U., Chechetkin A. V., Grishina G. V., Kasyanov A. D., Krasilshchikova I. V. Improved non-apparatus method of erythrocyte cryopreservation. *Transfusiology*. 2020; 21 (2): 115–128. eLIBRARY ID: 45825626. (in Russ.)

5. Okumura N., Kagami T., Watanabe K., Kadoya S., Sato M., Koizumi N. Feasibility of a cryopreservation of cultured human corneal endothelial

cells. *PLoS One*. 2019; 14 (6):e0218431. DOI: 10.1371/journal.pone.0218431.

6. Manin B. L. Cryopreservation and cultivation of cell lines are the two stages of biological objects existence. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2008; 6: 390–405. eLIBRARY ID: 14933114. (in Russ.)

7. Kurnenkova E. V., Kulyashbekova Sh. K. Kriokonservirovanie kletok, soderzhashchikh virus bolezni Mareka = Cryopreservation of cells containing Marek's disease virus. *Aktual'nye voprosy zootekhnicheskoi nauki i praktiki kak osnova uluchsheniya produktivnykh kachestv i zdorov'ya sel'sko-khozyaistvennykh zhivotnykh: materialy II Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (g. Stavropol', 22–24 oktyabrya 2003 g.)* = Topical issues of zootechnical science and practice as a basis for improving productive qualities and health of farm animals: materials of II International Scientific and Practical Conference (Stavropol, October 22–24, 2003). Stavropol: AGRUS; 2003; 349–354. eLIBRARY ID: 25608061. (in Russ.)

8. Zhukov I. Yu., Shevchenko I. V., Vlasova N. N., Varentsova A. A., Manin B. L., Puzankova O. S., et al. Study of african swine fever virus reproduction in porcine primary bone marrow cell culture before and after cryopreservation. *Veterinary Science Today*. 2016; (1): 7–15. (in Russ.)

9. Plotnikova E. M., Arkharova I. A., Samsonov A. I., Churina Z. G. The biological properties of cell cultures after long-term cryopreservation. *Veterinarny Vrach*. 2018; 2: 7–11. eLIBRARY ID: 32786366. (in Russ.)

10. Guan W., Wang D., Bai C., Zhang M., Li C., Ma Y. Biological characteristic of an embryonic fibroblast line from Xiaoshan chicken for genetic conservation. *Journal of Cell and Animal Biology*. 2012; 6 (4): 46–53. DOI: 10.5897/JCAB11.089.

11. Animal cell in culture (methods and implementation in biotechnology). Ed. by L. P. Dyakonov, V. I. Sitkov. Moscow: Sputnik+; 2000. 400 p. (in Russ.)

12. Tsutsayeva A. A., Petrenko T. F. Kriokonservatsiya kul'tiviruemykh kletok zhivotnykh = Cryopreservation of cultured animal cells. In: *Methods of cell culture: Collection of scientific papers*. Ed. by G. P. Pinaev. Leningrad: Nauka; 1988; 63–69. (in Russ.)

13. Cryopreservation of cell culture. Ed. by A. A. Tsutsayeva. Kyiv: Naukova Dumka; 1983. 240 p. (in Russ.)

14. Greene A. E., Athreya B., Lehr H. B., Coriell L. L. Prolonged storage of cells in dimethyl sulphoxide and glycerol at varying temperatures. *Cryobiology*. 1967; 3 (5): 383–384. DOI: 10.1016/S0011-2240(67)80115-9.

15. Pavlovich E. V., Volkova N. A., Goltsev A. N. Kriokonservirovanie fibroblastov cheloveka v prisutstvii nanochastits zolota = Cryopreservation of human fibroblasts in the presence of gold nanoparticles. *Teoreticheskie i prakticheskie aspekty sovremennoi kriobiologii: materialy Mezhdunarodnoi zaachnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii (24 marta 2014 g.)* = Theoretical and practical aspects of modern cryobiology: proceedings of the International Correspondence Scientific and Practical Conference (March 24, 2014). Syktyvkar; 2014; 203–208. Available at: <http://physiol.komisc.ru/kriokonf.pdf>. (in Russ.)

16. Lazareva S. P., Manin B. L. Cryoconservation of primary trypsinized chick embryo fibroblast cells. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2016; 14: 177–192. eLIBRARY ID: 30095812. (in Russ.)

17. Starov S. K., Gerasimova N. I., Yevseyev A. M., Sarbasov A. B. Cultivation of avian reovirus S1133 vaccine strain in chicken embryo fibroblast subculture. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2005; 3: 400–405. eLIBRARY ID: 24397208. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 10.02.2022

Поступила после рецензирования / Revised 05.04.2022

Принята к публикации / Accepted 15.04.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Лазарева Светлана Петровна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Мудрак Наталья Станиславовна, доктор биологических наук, главный научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Svetlana P. Lazareva, Candidate of Science (Biology), Junior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

Natalia S. Mudrak, Doctor of Science (Biology), Chief Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

Эффективность и безопасность лекарственных препаратов при лечении экспериментальных и спонтанных микоплазменных инфекций

В. А. Агольцов¹, Л. П. Падило², О. П. Бирюкова³, М. М. Лигидова⁴

ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н. И. Вавилова» (ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ), Саратов, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0001-6991-7253>, e-mail: agoltsov-saratov@yandex.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-8402-6798>, e-mail: padilo-2019@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-0843-719X>, e-mail: kras-bi@yandex.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-0528-6514>, e-mail: maryana090392@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Микоплазмозы крупного и мелкого рогатого скота, свиней и птиц имеют широкое распространение и чаще всего проявляются в ассоциативной форме течения инфекционного процесса. *Mycoplasma* spp. вызывают воспалительные заболевания органов дыхания, суставов и мозговых оболочек, керато-конъюнктивиты, маститы и эндометриты, аборт и рождение мертвого нежизнеспособного приплода. Этиотропная терапия микоплазменных инфекций заключается в назначении антибиотиков: энрофлоксацина, дифлоксацина, окситетрациклина, хлортетрациклина, доксициклина, тилозина, тилмикозина, тилвалозина, тиамулина, флорфеникола, линкомицина, спектиномицина, тулатромицина. Результаты исследований, опубликованные в различных источниках, показывают высокую чувствительность *Mycoplasma synoviae* и *Mycoplasma gallisepticum* к тетрациклинам, тиамулину и тилвалозину. Изоляты с повышенной устойчивостью к тилмикозину также резистентны к тилозину и линкомицину. Лечение респираторных инфекций ягнят, основными возбудителями которых являются *Mannheimia haemolytica* и *Mycoplasma*, проходит успешно с применением фторхинолонов, тилмикозина, тулатромицина, хлортетрациклина, энрофлоксацина, доксициклина и окситетрациклина. Изоляты *Mycoplasma bovis* в значительной степени чувствительны к окситетрациклину, флорфениколу и тулатромицину, менее выраженный терапевтический эффект оказывает энрофлоксацин. При лечении респираторных заболеваний молодняка крупного рогатого скота, протекающих в ассоциации с *Mycoplasma* spp., эффективны тилмикозин и окситетрациклин. Значительное терапевтическое действие при лечении пневмонии у поросят-отъемышей, экспериментально инфицированных *Mycoplasma hyopneumoniae*, оказывает тулатромицин и тилмикозин, заметно повышает лечебный эффект многократное (курсовое) применение энрофлоксацина. Тилмикозин эффективен в борьбе и с другими бактериальными инфекциями свиней (пастереллезом, стрептококкозом, гемофильным полисерозитом, инфекционным атрофическим ринитом). Общая профилактика микоплазменных инфекций заключается в соблюдении ветеринарно-санитарных норм и осуществлении карантинных мероприятий в очаге инфекции.

Ключевые слова: обзор, микоплазмоз, лечение, птицы, мелкий и крупный рогатый скот, свиньи, энрофлоксацин, дифлоксацин, окситетрациклин, хлортетрациклин, доксициклин, тилозин, тилмикозин, тилвалозин, тиамулин, флорфеникол, линкомицин, спектиномицин, тулатромицин

Для цитирования: Агольцов В. А., Падило Л. П., Бирюкова О. П., Лигидова М. М. Эффективность и безопасность лекарственных препаратов при лечении экспериментальных и спонтанных микоплазменных инфекций. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 169–175. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-169-175.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Агольцов Валерий Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры болезней животных и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ», 410012, Россия, г. Саратов, Театральная площадь, 1, e-mail: agoltsov-saratov@yandex.ru.

Effectiveness and safety of therapeutics used for treatment of experimental or spontaneous *Mycoplasma* infections

V. A. Agoltsov¹, L. P. Padilo², O. P. Biryukova³, M. M. Ligidova⁴

FSBEU HE "Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov" (FSBEU HE Saratov SAU), Saratov, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0001-6991-7253>, e-mail: agoltsov-saratov@yandex.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-8402-6798>, e-mail: padilo-2019@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-0843-719X>, e-mail: kras-bi@yandex.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-0528-6514>, e-mail: maryana090392@mail.ru

SUMMARY

Mycoplasmoses of cattle and small ruminants, pigs and poultry are widely spread and the infection process is frequently associated with other diseases. *Mycoplasma* spp. cause inflammatory respiratory diseases, diseases of joints and meninges, keratoconjunctivitis, mastitis and endometritis, abortion and stillbirths. Etiotropic therapy of mycoplasmal infections consists in prescribing antibiotics: enrofloxacin, difloxacin, oxytetracycline, chlortetracycline, doxycycline, tylosin, tilimicosin,

tylvalosin, tiamulin, florfenicol, lincomycin, spectinomycin, tulathromycin. The results of studies described in different publications show high sensitivity of *Mycoplasma synoviae* and *Mycoplasma gallisepticum* to tetracyclines, tiamulin and tylvalosin. Isolates with increased resistance to tilmicosin are also resistant to tylosin and lincomycin. Treatment of respiratory infections in lambs, the main causative agents of which are *Mannheimia haemolytica* and *Mycoplasma*, has been successful with the use of fluoroquinolones, tilmicosin, tulathromycin, chlortetracycline, enrofloxacin, doxycycline, and oxytetracycline. Isolates of *Mycoplasma bovis* are largely sensitive to oxytetracycline, florfenicol and tulathromycin. Enrofloxacin has a less pronounced therapeutic effect. Tilmicosin and oxytetracycline are effective in the treatment of respiratory diseases of young cattle, associated with *Mycoplasma* spp. Tulathromycin and tilmicosin have a significant therapeutic effect in the treatment of pneumonia in weaned piglets experimentally infected with *Mycoplasma hyopneumoniae*. Multiple (course) use of enrofloxacin significantly increases the therapeutic effect. Tilmicosin is effective in the control of other bacterial infections of pigs (pasteurellosis, streptococcosis, hemophilic polyserositis, infectious atrophic rhinitis). The general prophylaxis of mycoplasmal infections is to comply with veterinary and sanitary standards and to implement quarantine measures in the infection outbreak.

Keywords: review, mycoplasmosis, treatment, poultry, small and large cattle, pigs, enrofloxacin, difloxacin, oxytetracycline, chlortetracycline, doxycycline, tylosin, tilmicosin, tylvalosin, tiamulin, florfenicol, lincomycin, spectinomycin, tulathromycin

For citations: Agoltsov V. A., Padilo L. P., Biryukova O. P., Ligidova M. M. Effectiveness and safety of therapeutics used for treatment of experimental or spontaneous *Mycoplasma* infections. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 169–175. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-169-175.

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

For correspondence: Valeriy A. Agoltsov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Professor of the Department of Animal Diseases and Veterinary Sanitary Examination, FSBEU HE Saratov SAU, 410012, Russia, Saratov, Teatral'naya ploshchad', 1, e-mail: agoltsov-saratov@yandex.ru.

Микоплазмы являются причиной многих патологий человека, различных видов животных, птиц: респираторных, аутоиммунных заболеваний, болезней репродуктивных органов и суставов. Известно также, что микоплазмы поражают головной мозг овец и коз, крупного рогатого скота, птиц. Были представлены доказательства того, что некоторые виды спироплазм могут играть определенную роль в развитии трансмиссивных губчатых энцефалопатий. За последние несколько десятилетий микоплазмы были выделены из головного мозга морских млекопитающих, умирающих в большом количестве в Северном море, хотя было показано, что роль этого патогена может быть вторичной по отношению к основному вирусному заболеванию [1]. В настоящее время микоплазмы водных животных изучены недостаточно. Исследование, проведенное J. El-Jakee et al., пролило свет на характеристику уникальных изолятов микоплазм, обнаруженных у рыб из различных географических районов по всему Египту. *Mycoplasma* spp. выделяли с использованием селективных питательных сред, идентифицировали с помощью морфохимических тестов, а затем подтверждали молекулярно-генетически с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) по гену 16S рибосомальной РНК (рРНК). Результаты показали, что частота встречаемости *Mycoplasma* у *Cyprinus carpio*, *Oreochromis niloticus*, *Aulopiformes synodontidae* и *Clarias gariepinus* составила 33,33; 16,36; 8,108 и 6,45% соответственно, в то время как у *Mugil cephalus* данные микроорганизмы не выявили. При этом микоплазмы были обнаружены только в жабрах и плавательном пузыре пораженных рыб. Биохимически выделенные *Mycoplasma* были сгруппированы в два кластера: в первый вошли 35 изолятов, во второй – 7 изолятов. Микоплазмы первого кластера, в отличие от представителей второго, активно восстанавливали соли тетразолия. Филогенетическое дерево, построенное на основании неполных последовательностей гена 16S рРНК, показало, что оба кластера сгруппированы в одну ветвь и отделены от других *Mycoplasma* spp., что свидетельствует о принадлежности обоих кластеров к одному виду. Интересно, что при постановке ПЦР с использованием специфических

праймеров для видов *M. mobile* и *M. monodon* установить видовую принадлежность всех выделенных от рыб изолятов микоплазм не удалось. Этот результат подтвердил принадлежность микроорганизмов этих двух кластеров к неустановленным видам микоплазм, для которых ввели временные названия: *Mycoplasma* 1-го кластера и *Mycoplasma* 2-го кластера. Исследование патогенности микоплазм обоих кластеров показали, что при инокулировании нильским тилепиям все рыбы были восприимчивы к данным видам *Mycoplasma* [2].

Наиболее часто микоплазмы являются этиологическим фактором болезней птиц в странах Азии. Так, при проведении лабораторных исследований С. J. Morrow et al. выделили 26 изолятов *M. synoviae* и 11 изолятов *M. gallisepticum* из 164 клинических образцов, собранных в Китае, Индии, Индонезии, Малайзии, Республике Корея, Таиланде и на Филиппинах. Большинство изолятов были получены от птиц промышленных птицефабрик. Для увеличения сохранности биологических образцов для исследования при транспортировке, сразу после отбора патологический материал очищали методом мембранной фильтрации (размер пор 0,45 мкм). Минимальные ингибирующие концентрации (МИК) энрофлоксацина, дифлоксацина, окситетрациклина, хлортетрациклина, доксициклина, тилмозицина, тилвалозицина, тиамулина, флорфеникола, линкомицина, спектиномицина и комбинации спектиномицина и линкомицина (1:2) были определены методом микро-разведений в бульоне. У части изолятов наблюдали пониженную чувствительность к противомикробным препаратам, не связанную с терапией антибиотиками. В целом полученные авторами результаты были аналогичны проведенным по всему миру исследованиям по изучению антибиотикорезистентности микоплазм. Как правило, наблюдалась высокая чувствительность *M. synoviae* и *M. gallisepticum* к тетрациклину, тиамулину и тилвалозину. Изоляты *M. synoviae* и *M. gallisepticum* с повышенной устойчивостью к тилмиколину (значения МИК₉₀ ≥ 64 мкг/мл) были также устойчивы и к тилмозину. Все изоляты с пониженной чувствительностью к линкомицину показали повышенную устойчивость

к тилмикозину. Показано, что выделение микоплазм и определение МИК можно проводить и в лабораториях хозяйств, что позволит оперативно и более эффективно использовать противомикробные препараты или другие методы борьбы с микоплазменной инфекцией у кур (например, живые вакцины) и, следовательно, более ответственно использовать антибиотики в рамках концепции «Единое здоровье» [3].

Согласно представленным J. P. Yadav et al. данным, микоплазмоз является экономически важным заболеванием в птицеводстве, которое приводит к огромным потерям, складывающимся из снижения привесов, эффективности конверсии корма, яйценоскости, выводимости; увеличения смертности эмбрионов, отбраковки туш, затрат на профилактику и лечение бройлеров, несушек и родительского стада. Заболевание вызывается четырьмя основными патогенными микоплазмами *M. gallisepticum*, *M. synoviae*, *M. meleagridis* и *M. iowae*, являющимися причиной респираторного микоплазмоза кур, инфекционного синовита цыплят и индюшат, инфекционного синусита индеек, аэросаккулита индюшат, инфекции половых органов индеек. Респираторный микоплазмоз и инфекционный синовит птиц, возбудителями которых являются *M. gallisepticum* и *M. synoviae*, включены в список notiфицируемых болезней Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ). Микоплазмы передаются как горизонтально, так и вертикально. Меры профилактики и борьбы с микоплазмозом птиц в основном включают биозащиту, лечение и вакцинацию. Для вакцинации птиц против инфекции, вызванной *M. gallisepticum* и *M. synoviae*, применяют инактивированные, живые аттенуированные и/или рекомбинантные (векторные) живые вакцины. Авторы в своем систематическом обзоре обобщают различные эпизоотологические исследования, проведенные в 2010–2020 гг. в отношении микоплазменных инфекций, возбудителем которых являются *M. gallisepticum* и *M. synoviae*, среди домашней птицы в различных географических точках Индии и за рубежом, их экономическое влияние, диагностику, профилактику и контроль [4].

Одной из мер борьбы с микоплазменной инфекцией у продуктивных животных является применение противобактериальных средств (тилозина, тиамулина, энрофлоксацина и др.), однако они вызывают появление резистентных штаммов возбудителей в стадах и при неправильном назначении могут проникнуть в продукты питания людей. Нередко в стадах, подвергнутых вакцинации, выявляют полевые штаммы микоплазм, и использование антимикробных препаратов после вакцинации против микоплазмоза может повлиять на эффективность иммунизации вакцинным штаммом, поэтому данный вопрос требует дополнительных исследований.

В ветеринарии для профилактики и лечения микоплазмозов широко используются антибиотики класса макролидов, включая тилозин и тилмикозин. Тестирование чувствительности *in vitro* 50 штаммов *M. gallisepticum*, выделенных в Израиле в период с 1997 по 2010 г., проведенное группой ученых во главе с I. Gerchman [5], показало, что приобретенная устойчивость к тилозину, а также к тилмикозину присутствует у 50% из них. Более того, 13 из 18 штаммов (72%) микоплазм, изолированных из клинических образцов начиная с 2006 г., показали приобретенную резистентность к энрофлоксацину, тилозину и тилмикозину. Молекулярное типирование полевых изолятов, выполненное с помощью таргет-

ного секвенирования генов-мишеней (GTS), выявило 13 молекулярных типов *M. gallisepticum* (I–XIII). Тип II был преобладающим до 2006 г., тогда как тип X, впервые обнаруженный в 2008 г., преобладает в настоящее время. Все десять штаммов типа X были резистентны как к фторхинолонам, так и к макролидам, что свидетельствует о селективном давлении, ведущем к распространению устойчивости клонального типа. Также были обнаружены резистентные штаммы с другими молекулярными типами устойчивости. Одновременно была выявлена молекулярная основа резистентности *M. gallisepticum* к макролидам. Авторы установили четкую корреляцию между одноточечными мутациями в позиции A2058G или A2059G в гене 23S rRNA и приобретенной устойчивостью *M. gallisepticum* к макролидам. Все изоляты с МИК $\geq 0,63$ мкг/мл для тилозина и с МИК $\geq 1,25$ мкг/мл для тилмикозина обладают одной из этих мутаций, что указывает на существенную роль в снижении чувствительности *M. gallisepticum* к 16-членным макролидам. Похожие результаты получены и другими учеными [6, 7].

Инфекционная агалактия коз и овец, вызываемая *M. agalactiae*, представляет собой инфекционное заболевание, которое требует быстрой диагностики, чтобы уменьшить экономические потери в производстве молока и смертность ягнят [8]. Для выявления этого этиологического агента и принятия своевременных профилактических мер используется ПЦР. С помощью данного метода J. F. De Almeida et al. исследовали 19 культур, хранившихся в течение двух лет при минус 20 °C в модифицированном бульоне Хейфлика с 50% глицерина, семь из них идентифицированы как *Mycoplasma* spp. и 12 типированы как *M. agalactiae* с помощью непрямого иммунопероксидазного метода [9].

Самыми распространенными клиническими признаками инфекционной агалактии у мелких жвачных являются мастит, конъюнктивит и артрит. Беременные животные abortируют. Наиболее восприимчивы к заболеванию лактирующие животные, козлята и ягнята до месячного возраста. Основными возбудителями у овец являются *M. agalactiae*, у коз – *M. agalactiae*, *M. mycoides* subsp. *mycoides* и *M. capricolum* subsp. *capricolum*. Кроме того, *M. putrefaciens* может вызывать аналогичную клиническую картину, особенно у коз. Инфекционная агалактия встречается на всех пяти континентах и часто протекает в виде энзоотии. Широко распространено бессимптомное носительство микоплазм, которое трудно диагностировать и контролировать, при этом латентная инфекция в стаде при снижении уровня иммунной защиты переходит в хроническую форму. Выделение возбудителя из организма во внешнюю среду происходит главным образом с молоком и может продолжаться в течение длительного времени. Основной способ передачи инфекции связан с продажей животных-носителей и контактом во время перегонов скота. Передача возбудителя внутри стада происходит при непосредственном контакте с больными и микоплазмонасителями через слизистые оболочки, кожу, пищеварительный тракт и при доении [6, 10]. Также имеются сведения о гистопатологических поражениях в головном мозге овец, экспериментально инфицированных *M. agalactiae* через молочную железу, что стало причиной негнойного энцефалита, а также атаксии у молодых животных [1, 11].

Бактериальные респираторные инфекции у ягнят возникают довольно часто. Лечение должно быть симптоматическим, а также направленным на ограничение

поражения легких больных животных и требует немедленных действий, в основном с применением противомикробных средств, эффективных против бактерий-возбудителей. В клинической практике правильная идентификация патологии ягнят важна для назначения соответствующего лечения. Фторхинолоны, тилмиколин, тулатромицин, хлортетрациклин, энрофлоксацин, доксициклин и окситетрациклин эффективны против *Mannheimia haemolytica* и *Mycoplasma*, которые являются основными возбудителями респираторных инфекций ягнят [12–14]. Также рекомендуется одновременный прием нестероидных противовоспалительных средств. Все ягнята с клиническими признаками должны пройти полный курс лечения. Потенциальную ценность метафилактического лечения клинически здоровых ягнят в стадах с пораженными животными следует оценивать в каждом конкретном случае. Протоколы лечения болезни всегда должны включать изменения в управлении стадом для устранения факторов, способствующих развитию болезни [10].

Согласно данным D. Dacak et al., микоплазмоз считается новым заболеванием среди популяций диких животных. В опубликованном авторами исследовании сообщается о случае микоплазмоза у трех енотов-ракоедов (*Procyon cancrivorus*), содержащихся в неволе в городе Асунсьон (Парагвай). Диагноз устанавливали цитологически с использованием мазков периферической крови, окрашенных по Романовскому – Гимзе. Животных лечили энрофлоксацином (10 мг/кг), что привело к быстрому выздоровлению [15]. Также опубликованы сведения об обнаружении методом ПЦР у бородатой агамы (*Pogona vitticeps*), павшей несмотря на антимикробную и поддерживающую терапию от пневмонии, нового вида микоплазмы, условно названного *Mycoplasma pogonae* [16].

Mycoplasma spp. представляют собой уникальные микроорганизмы, связанные с несколькими заболеваниями, включая маститы, пневмонии и артрит у животных. Одна из проблем при определении роли микоплазм в возникновении болезни является их патогенность. В развитии микоплазмозов крупного рогатого скота значительную роль играют *M. mycoides* subsp. *mycoides*, *M. bovis*, *M. bovis genitalium* и *M. dispar*. При исследовании вагинальных мазков коров в Бразилии выявляемость *M. bovis genitalium* составляла 9,29% [17], в Японии – 7,4% [7]. От крупного рогатого скота *Mycoplasma* может быть изолирована как от клинически здоровых, так и от больных животных. При естественном заражении в полевых условиях микоплазменная пневмония часто встречается как смешанная инфекция. Кроме того, наблюдения в ходе научных исследований и клинический опыт показали, что присутствие микоплазмы увеличивает тяжесть респираторного заболевания [14, 18–26]. Сообщалось, что *M. bovis* иногда обнаруживали в мозге телят и взрослого крупного рогатого скота с рядом гистопатологических поражений, включая абсцессы и фибринозный менингит [1].

Патогномоничных признаков микоплазменной инфекции нет. Клинические признаки, связанные с респираторными инфекциями, включают тахипноэ, одышку, выделения из глаз и носа, депрессию, снижение аппетита, неестественность позы и лихорадку. К клиническим признакам, связанным с инфекциями суставов, относят скованность, хромоту, трудности при вставании, опухание суставов и влажные сухожилия, снижение аппетита и потерю веса.

В настоящее время среди лабораторных методов диагностики микоплазмозов животных используют серологическое исследование крови на наличие антител к микоплазмам, ПЦР для обнаружения ДНК микоплазм в биологических образцах, а также культивирование (бактериологическое исследование) с последующими микроскопией и изучением биохимических свойств выделенных изолятов. Все три указанных лабораторных метода часто применяют одновременно, так как они дополняют друг друга. Бактериологические методы позволяют оценить жизнеспособность микоплазм и при этом обладают высокой чувствительностью. *Mycoplasma* для культивирования требует специальных питательных сред и особых условий для выращивания в лаборатории. Если практикующий ветеринарный врач хочет подтвердить диагноз с помощью выделения микоплазм микробиологическим методом, при отправке образцов в лабораторию необходимо указать о необходимости проведения посева. При получении положительного на микоплазмоз результата ветеринарный специалист должен получить из лаборатории рекомендации по применению соответствующих и эффективных методов лечения препаратами [27–29].

Терапия при микоплазмозе, как экспериментальная, так и в полевых условиях, не всегда однозначна и часто не приносит результатов. Поскольку микоплазмы устойчивы к целому ряду лекарственных препаратов, основной упор должен быть сделан на усиление мер биологической защиты в животноводческих и птицеводческих хозяйствах [30].

Влияние противомикробной терапии и стратегий профилактики на респираторные заболевания крупного рогатого скота на откорме, а также генетическое родство и устойчивость к противомикробным препаратам изолятов *M. bovis* в западной части Канады изучали S. H. Hendrick et al. Телята откормочной площадки ($n = 3784$) были разделены на группы. Одни в качестве метафилактического лечения получали окситетрациклин, другие, с диагнозом «респираторная болезнь, вызванная *M. bovis*», – флорфеникол по схеме: один раз подкожно или дважды внутримышечно с интервалом 48 ч. Группе контрольных животных противомикробный препарат не применяли. Телят из разных групп лечения объединили и вели наблюдение за ними в течение 100 дней. Животные, получавшие окситетрациклин, имели пониженный риск возникновения респираторных заболеваний, повышенный риск развития артрита и отсутствие значимых различий в среднем суточном приросте, рецидивах болезни, смертности. Существенных различий между протоколами лечения не было. Мазки ($n = 233$), взятые со слизистой оболочки носа до лечения ($n = 122$), при лечении ($n = 77$), мазки из легких и суставов при вскрытии ($n = 34$) были получены от 61 животного, заболевшего или погибшего от хронического течения болезни (пневмония и артрит), а также от 61 здорового теленка. Далее проводили бактериологический посев и культивировали *M. bovis*. За два года исследования был выделен 51 изолят, который тестировали на чувствительность к противомикробным препаратам с использованием специальных сенсифицирующих пластин. Авторы сделали вывод, что все изоляты были в значительной степени чувствительны к тестируемому антимикробным препаратам, кроме тилмиколина, поэтому для лечения микоплазмоза, вызванного *M. bovis*, его не следует назначать без предварительного тестирования на чувствительность [31].

В ветеринарной практике наиболее популярно применение препаратов пролонгированного действия. Сравнение тилмикозина с окситетрациклином при лечении заболеваний дыхательных путей у телят изучали J. Musser et al. Целью эксперимента было проведение сравнительного эффекта однократной парентеральной инъекции тилмикозина с эффектом однократной дозы окситетрациклина длительного действия в качестве лечения на ранних стадиях естественно приобретенного недифференцированного заболевания дыхательных путей у молодых молочных телят. В эксперименте участвовали 40 телят молочного периода из 5 хозяйств, которых обследовали еженедельно до 3-месячного возраста. При диагностировании заболевания дыхательных путей телят распределяли в одну из двух групп лечения. Для характеристики патогенов были взяты образцы транстрахеальных смывов. Затем в течение 3 дней после лечения обследовали животных, оценивали степень тяжести течения болезни, используя систему баллов, и вели учет темпа роста. Учитывая реакцию организма на первоначальное лечение, частоту рецидивов и влияние на скорость роста, антибиотики были признаны одинаково эффективными. Проявление клинических признаков заболевания было менее выражено ($P < 0,03$) у телят, получавших тилмикозин на 2-й и 3-й день после начала лечения. При исследовании образцов транстрахеальных смывов *Pasteurella multocida* выделена у 25 из 40 обследованных телят, *P. haemolytica* – у 4 животных, *Haemophilus somnus* – у 4, *Actinomyces pyogenes* – у 3 и *Aspergillus* spp. – у 2 телят. *Mycoplasma* была выделена в ассоциации с другими бактериальными изолятами у 22 телят из 40 обследованных. В результате экспериментов было установлено, что тилмикозин и окситетрациклин эффективны при лечении заболеваний дыхательных путей у молодняка, даже когда в инфекционный процесс вовлечены *Mycoplasma* spp. Тилмикозин более эффективен для устранения клинических признаков микоплазмоза. Раннее лечение молочных телят с заболеваниями дыхательных путей может уменьшить негативное воздействие на их рост и развитие [32].

Эффективность тулатромицина по сравнению с энрофлоксацином для первичного лечения естественно приобретенного респираторного заболевания крупного рогатого скота на откорме изучали E. J. Robb et al. Телят с клиническими признаками респираторного заболевания на двух откормочных площадках случайным образом распределили для лечения тулатромицином (2,5 мг/кг подкожно) или энрофлоксацином (12,5 мг/кг подкожно). Применение тулатромицина привело к значительно более высокому ($P = 0,009$ и $P = 0,031$) терапевтическому успеху (87,9 и 80,0%), чем введение энрофлоксацина (70,2 и 62,5%). Животным, получавшим тулатромицин, назначали меньшее количество последующих курсов лечения, они также набирали больший вес по сравнению с телятами, которым применяли энрофлоксацин [33]. О преимуществе применения тех или иных антимикробных препаратов, а также их комбинаций при других часто регистрируемых бактериальных инфекциях, возникающих как самостоятельно, так и в ассоциации с микоплазмозом, сообщают и другие исследователи [34, 35].

Оценка применения тулатромицина для лечения пневмонии после экспериментального интраназального заражения поросят-отъемышей *M. hyopneumoniae* была проведена J. McKelvie et al. Через пять дней после инокуляции патогена животных разделили на

группы: одним однократно внутримышечно вводили физиологический раствор, другим однократно внутримышечно применяли тулатромицин (2,5 мг/кг; день 0), третьим трехкратно внутримышечно инъектировали энрофлоксацин (5,0 мг/кг; дни 0, 1, 2). Вскрытие свиней проводилось на 12-й или 13-й день. Незараженные животные оставались здоровыми без патологии легких. У свиней, получавших тулатромицин, наблюдался кашель, средний балл поражения и пропорциональный вес легких были значительно снижены, а прибавка веса в сравнении с контрольной группой была значительно больше ($P < 0,05$). При сравнении эффективности энрофлоксацина и тулатромицина установлено, что значительных различий в пропорциональной массе легких или приросте массы тела поросят в группах не было, но кашель был сильнее и поражения легких были тяжелее у свиней, получавших энрофлоксацин ($P < 0,05$). Авторами сделан вывод, что тулатромицин был эффективен при лечении пневмонии после экспериментального заражения *M. hyopneumoniae* [13]. Многократное (курсовое) применение энрофлоксацина заметно повышает лечебный эффект по сравнению с трехкратным, отмечает целый ряд исследователей [36–38].

Исследование эффективности и безопасности тилмикозин фосфата при лечении экспериментальной микоплазменной инфекций у свиней проведено X. H. Zhang et al. Изучались такие показатели, как эффективность, коэффициент излечения, уровень смертности, степень поражения легких, общий и биохимический анализы крови, а также общий анализ мочи. Результаты показали, что введение в дозах 100, 80 и 60 мг/л 10%-го растворимого порошка тилмикозин фосфата оказывало отчетливый терапевтический эффект при пневмонии свиней микоплазменной этиологии (значительно снизились поражения в легких). Кроме выраженного антибактериального действия препарат способствовал увеличению массы больных свиней. Авторы отметили, что лечение инфицированных свиней тилмикозин фосфатом в дозе 60–100 мг/л не повлияло на результаты анализов крови, мочи, из этого сделан вывод, что препарат безопасен для больных свиней [39].

Оценку эффективности макролидного антибиотика в снижении количества респираторных патогенов у поросят, отнятых от свиноматок через 12 и 21 сут после опороса, проводили L. K. Clark et al. Целью их исследований было определение терапевтического действия кормового антибиотика тилмикозина на свиней, зараженных *M. hyopneumoniae*, а также влияние препарата на другие возбудители респираторных болезней. В опыте использовали пятьдесят свиней, разделенных на пять экспериментальных групп. Поросята трех групп были отняты от свиноматок в 12-суточном возрасте: одних заразили *M. hyopneumoniae* и обработали тилмикозином; вторых инфицировали, но препарат не вводили; третья группа была интактной. Поросята еще двух групп были отлучены от свиноматки в возрасте 21 сут, их не подвергали заражению *M. hyopneumoniae*, при этом в одной группе применяли тилмикозин, второй группе препарат не давали. У некоторых свиней во всех группах лечения развились клинические признаки, сходные с признаками болезни, вызванной *Haemophilus parasuis*, им вводили пенициллин в течение 3 дней подряд. Развитие респираторного заболевания оценивали по наличию кашля и поражению легких при вскрытии. Биологический материал исследовали

на наличие *M. hyopneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *H. parasuis*, *Pasteurella multocida*, *Streptococcus suis* и *Bordetella bronchiseptica*. Кроме того, сыворотки крови всех свиней оценивались на наличие антител к *M. hyopneumoniae* и *A. pleuropneumoniae*. Также измеряли массу тела и рассчитывали прирост в период от 12 до 56 сут. Авторами было установлено, что тилмикозин не повлиял на скорость роста свиней различных групп и уменьшал кашель ($P < 0,01$), хотя степень поражения легких незначительно ($P > 0,05$) отличалась от животных, не получавших препарат. *A. pleuropneumoniae*, *B. bronchiseptica* и *P. multocida* не были выделены из тканей ни одной из свиней. Четыре из семи поросят, от которых был выделен *S. suis*, были из контрольной группы, тогда как у животных, обработанных тилмикозином, данный возбудитель не выявляли. При посмертном исследовании выделили *H. parasuis* у 19 из 20 свиней, не зараженных *M. hyopneumoniae*, и 7 из 30 свиней раннего отъема. Свиньи во всех пяти группах были серопозитивными к *A. pleuropneumoniae* в 12-суточном возрасте, но в процессе эксперимента титры снижались. У двух из десяти свиней, не зараженных микоплазмой и не подвергавшихся обработке тилмикозином, отмечена сероконверсия к *M. hyopneumoniae*. Сделаны выводы о том, что препарат уменьшал поражения, вызванные микоплазменной пневмонией, задерживал возникновение кашля и, вероятно, таким образом препятствовал развитию патологии легких, снижал колонизацию *S. suis* и сероконверсию *M. hyopneumoniae* [36].

Об эффективности применения тилмикозина при других часто регистрируемых бактериальных инфекциях (пастереллезе, стрептококкозе, гемофилезном полисерозите, инфекционном атрофическом рините) сообщают и другие исследователи [39–41].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Микоплазмы способны вызывать глубокие патологические процессы в организме человека, животных различных видов и птиц. Они вызывают воспалительные заболевания органов дыхания, мочеполовой системы, суставов, мозговых оболочек. Чаще всего микоплазменная респираторная инфекция протекает в виде пневмонии и может осложнять течение какой-либо вирусной респираторной инфекции.

Микоплазмоз является экономически важным заболеванием в птицеводстве и приводит к огромным потерям. Результаты исследований, опубликованные в различных источниках, показывают, что, как правило, высокая чувствительность *M. synoviae* и *M. gallisepticum* наблюдается к тетрациклам, тиамулину и тилвалозину. Изоляты с повышенной устойчивостью к тилмикозину (значения $\text{МИК}_{90} \geq 64$ мкг/мл) также устойчивы к тилозину и линкомицину. Израильские ученые при тестировании чувствительности *in vitro* 50 штаммов *M. gallisepticum* к антимикробным препаратам установили, что приобретенная устойчивость к тилозину, а также к тилмикозину присутствует у 50% из них. Авторы выявили четкую корреляцию между одноточечными мутациями в позиции A2058G или A2059G в гене 23S рРНК и приобретенной устойчивостью *M. gallisepticum* к макролидам.

Фторхинолоны, тилмикозин, тулатромицин, хлортетрациклин, энрофлоксацин, доксициклин и окситетрациклин эффективны против *Mannheimia haemolytica* и *Mycoplasma*, которые являются основными возбудителями респираторных инфекций ягнят.

Анализ доступной литературы показал, что изоляты *M. bovis* в значительной степени чувствительны к окситетрациклину, флорфениколу и тулатромицину, менее выраженный терапевтический эффект оказывает энрофлоксацин. В результате экспериментов установлено, что тилмикозин и окситетрациклин эффективны при лечении заболеваний дыхательных путей у молодняка, даже когда в инфекционный процесс вовлечены *Mycoplasma* spp. Тилмикозин более эффективен для устранения клинических признаков микоплазмоза, но его не следует назначать без предварительного тестирования на чувствительность патогена.

При сравнении эффективности препаратов для лечения пневмонии после экспериментального интраназального заражения поросят-отъемышей *M. hyopneumoniae* установлено значительное терапевтическое действие тулатромицина. Заметно повышает лечебный эффект многократное (курсовое) применение энрофлоксацина. Применение препаратов широкого спектра действия, к которым относится и тилмикозин, также является перспективным при лечении микоплазменной инфекции у свиней. Тилмикозин был эффективным в борьбе с другими часто регистрируемыми бактериальными инфекциями у свиней (пастереллезом, стрептококкозом, гемофилезным полисерозитом, инфекционным атрофическим ринитом).

Таким образом, эффективность лечения микоплазмоза у птиц, крупного и мелкого рогатого скота, свиней зависит как от применяемых препаратов, так и от этиологических агентов, значительную роль при этом играют сопутствующие микоплазмозу инфекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Rosales R. S., Puleio R., Loria G. R., Catania S., Nicholas R. A. J. Mycoplasmas: Brain invaders? *Res. Vet. Sci.* 2017; 113: 56–61. DOI: 10.1016/j.rvsc.2017.09.006.
- El-Jakee J., Elshamy S., Hassan A.-W., Abdelsalam M., Younis N., El-Hady M. A., Eissa A. E. Isolation and characterization of *Mycoplasmas* from some moribund Egyptian fishes. *Aquacult. Int.* 2020; 28: 901–912. DOI: 10.1007/s10499-019-00502-2.
- Morrow C. J., Kreizinger Z., Achari R. R., Bekó K., Yvon C., Gyuranecz M. Antimicrobial susceptibility of pathogenic mycoplasmas in chickens in Asia. *Vet. Microbiol.* 2020; 250:108840. DOI: 10.1016/j.vetmic.2020.108840.
- Yadav J. P., Tomar P., Singh Y., Khurana S. K. Insights on *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in poultry: a systematic review. *Animal Biotechnology.* 2021; DOI: 10.1080/10495398.2021.1908316.
- Gerchman I., Levisohn S., Mikula I., Manso-Silván L., Lysnyansky I. Characterization of *in vivo*-acquired resistance to macrolides of *Mycoplasma gallisepticum* strains isolated from poultry. *Vet. Res.* 2011; 42 (1):90. DOI: 10.1186/1297-9716-42-90.
- Bergonier D., Berthelot X., Poumarat F. Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Rev. Sci. Tech.* 1997; 16 (3): 848–873. DOI: 10.20506/rst.16.3.1062.
- Ghanem M. E., Higuchi H., Tezuka E., Ito H., Devkota B., Izaike Y., Osawa T. *Mycoplasma* infection in the uterus of early postpartum dairy cows and its relation to dystocia and endometritis. *Theriogenology.* 2013; 79 (1): 180–185. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2012.09.027.
- Bergonier D., Poumarat F. Agalactie contagieuse des petits ruminants: épidémiologie, diagnostic et contrôle = Contagious agalactia of small ruminants: epidemiology, diagnosis and control. *Rev. Sci. Tech.* 1996; 15 (4): 1431–1475. PMID: 9527414. (in French)
- De Almeida J. F., do Nascimento E. R., de Almeida Pereira V. L., Barreto M. L., de Martino Campos C. A., de Azevedo E. O. Polymerase chain reaction (PCR) in the diagnosis of goat mycoplasmosis proceeding from cultures stored in glycerol. *Rev. Bras. Med. Vet.* 2007; 29 (2): 54–57.
- Politis A. P., Vasileiou N. G. C., Ioannidi K. S., Mavrogianni V. S. Treatment of bacterial respiratory infections in lambs. *Small Ruminant Research.* 2019; 176: 70–75. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2019.05.005.
- Hegde Shivanand, Hegde Shrilakshmi, Spersger J., Brunthaler R., Rosengarten R., Chopra-Dewasthaly R. *In vitro* and *in vivo* cell invasion and systemic spreading of *Mycoplasma agalactiae* in the sheep infection model. *Int. J. Med. Microbiol.* 2014; 304 (8): 1024–1231. DOI: 10.1016/j.ijmm.2014.07.011.

12. Ambroset C., Pau-Roblot C., Game Y., Gaurivaud P., Tardy F. Identification and characterization of *Mycoplasma feriruminatoris* sp. nov. strains isolated from Alpine ibex: A 4th species in the *Mycoplasma mycoides* cluster hosted by non-domesticated ruminants? *Front. Microbiol.* 2017; 8:939. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00939.
13. McKelvie J., Morgan J. H., Nanjiani I. A., Sherington J., Rowan T. G., Sunderland S. J. Evaluation of tulathromycin for the treatment of pneumonia following experimental infection of swine with *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Veterinary Therapeutics.* 2005; 6 (2): 197–202. PMID: 16094566.
14. Tortorelli G., Carrillo Gaeta N., Mendonça Ribeiro B. L., Miranda Marques L., Timenetsky J., Gregory L. Evaluation of *Mollicutes* microorganisms in respiratory disease of cattle and their relationship to clinical signs. *J. Vet. Intern. Med.* 2017; 31 (4): 1215–1220. DOI: 10.1111/jvim.14721.
15. Dacak D., Petters J., Batista-Cirne L., Lucero M., Aliendre R., Guzmán J., Ordoñez R. Primer reporte de micoplasmosis en *Procyon cancrivorus* en cautiverio en Asunción, Paraguay. *Rev. Inv. Vet. Perú.* 2021; 32 (1): e19494. DOI: 10.15381/RIVEP.V32I1.19494.
16. Crossland N. A., DiGeronimo P. M., Sokolova Y., Childress A. L., Wellehan J. F. X. Jr, Nevarez J., Paulsen D. Pneumonia in a captive central bearded dragon with concurrent detection of helodermatid adenovirus 2 and a novel *Mycoplasma* species. *Vet. Pathol.* 2018; 55 (6): 900–904. DOI: 10.1177/0300985818780451.
17. Macêdo A. A. M., Oliveira J. M. B., Silva B. P., Borges J. M., Soares L. B. F., Silva G. M., et al. Occurrence of *Mycoplasma bovis* in dairy cattle from Pernambuco state, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2018; 70 (6): 1798–1806. DOI: 10.1590/1678-4162-10132.
18. Al-Farha A. A., Hemmatzadeh F., Khazandi M., Hoare A., Petrovski K. Evaluation of effects of *Mycoplasma mastitis* on milk composition in dairy cattle from South Australia. *BMC Vet. Res.* 2017; 13 (1): 351. DOI: 10.1186/s12917-017-1274-2.
19. Eissa S. I., Hassan A. M., Hashem Y. M., Shaker M. M. Comparative molecular study of *Mycoplasma bovis* isolates from Egyptian cattle and buffaloes. *European J. Biol. Sci.* 2012; 4 (4): 114–120. DOI: 10.5829/idosi.ejbs.2012.4.4.6668.
20. Eissa S., Hashem Y., Abo-Shama U. H., Shaker M. Sequence analysis of three genes of *Mycoplasma bovis* isolates from Egyptian cattle and buffaloes. *Microbiol. Res. J. Int.* 2016; 14 (3): 1–10. DOI: 10.9734/BMRJ/2016/25014.
21. Fox L. K. *Mycoplasma mastitis*: causes, transmission, and control. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2012; 28 (2): 225–237. DOI: 10.1016/j.cvfa.2012.03.007.
22. Nicholas R. A., Ayling R. D. *Mycoplasma bovis*: disease, diagnosis, and control. *Res. Vet. Sci.* 2003; 74 (2): 105–112. DOI: 10.1016/S0034-5288(02)00155-8.
23. Pothmann H., Spengler J., Elmer J., Prunner I., Iwersen M., Klein-Jöbstl D., Drillich M. Severe *Mycoplasma bovis* outbreak in an Austrian dairy herd. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2015; 27 (6): 777–783. DOI: 10.1177/1040638715603088.
24. Media releases on the *Mycoplasma bovis* response. Available at: <https://www.biosecurity.govt.nz/protection-and-response/mycoplasma-bovis/resources-for-mycoplasma-bovis/media-releases>.
25. Saraya T. The history of *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia. *Front. Microbiol.* 2016; 7:364. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00364.
26. Surýnek J., Vrtková I., Knoll A. *Mycoplasma bovis* was not detected in milk from dairy cattle in the Czech Republic. *Acta Univ. Agric. Silv. Mendeliana Brun.* 2016; 64 (1): 165–168. DOI: 10.11118/actaun201664010165.
27. Arcangioli M. A., Chazel M., Sellal E., Botrel M. A., Bezille P., Poumarat F., et al. Prevalence of *Mycoplasma bovis* udder infection in dairy cattle: preliminary field investigation in southeast France. *New Zealand Veterinary Journal.* 2011; 59 (2): 75–78. DOI: 10.1080/00480169.2011.552856.
28. Bednarek D., Ayling R. D., Nicholas R. A., Dudek K., Szymańska-Czerwinska M. Serological survey to determine the occurrence of respiratory *Mycoplasma* infections in the Polish cattle population. *Vet. Rec.* 2012; 171 (2): 45. DOI: 10.1136/vr.100545.
29. Calcutt M. J., Lysnyansky I., Sachse K., Fox L. K., Nicholas R. A. J., Ayling R. D. Gap analysis of *Mycoplasma bovis* disease, diagnosis and control: An aid to identify future development requirements. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (Suppl 1): 91–109. DOI: 10.1111/tbed.12860.
30. Sep D. L., Kirkpatrick J. G. *Mycoplasma* infection in cattle. Pneumonia – arthritis syndrome. *The Bovine Practitioner.* 2001; 35 (2): 149–155. DOI: 10.21423/bovine-vol35no2p149-155.
31. Hendrick S. H., Bateman K. G., Rosengren L. B. The effect of antimicrobial treatment and preventive strategies on bovine respiratory disease and genetic relatedness and antimicrobial resistance of *Mycoplasma bovis* isolates in a western Canadian feedlot. *Can. Vet. J.* 2013; 54 (12): 1146–1156. PMID: 24293675.
32. Musser J., Mechor G. D., Gröhn Y. T., Dubovi E. J., Shin S. Comparison of tilmicosin with long-acting oxytetracycline for treatment of respiratory tract disease in calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1996; 208 (1): 102–106. PMID: 8682696.
33. Robb E. J., Tucker C. M., Corley L., Bryson W. L., Rogers K. C., Sturgess K., et al. Efficacy of tulathromycin or enrofloxacin for initial treatment of naturally occurring bovine respiratory disease in feeder calves. *Veterinary Therapeutics.* 2007; 8 (2): 127–135. PMID: 17616947.
34. Greene C. E., Chalker V. J. Nonhemotropic Mycoplasma, Ureaplasma and L-Form Infections. In: *Infectious diseases of the Dog and Cat*. Ed. C. E. Greene. 4th ed. St Louis: Elsevier Inc.; 2011; 319–325.
35. Haapala V., Pohjanvirta T., Vähänikkilä N., Halkilahti J., Simonen H., Pelkonen S., et al. Semen as a source of *Mycoplasma bovis* mastitis in dairy herds. *Vet. Microbiol.* 2018; 216: 60–66. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.02.005.
36. Clark L. K., Wu C. C., Alstine W. G., Knox K. E. Evaluation of the effectiveness of a macrolide antibiotic on reduction of respiratory pathogens in 12-day and 21-day weaned pigs. *J. Swine Health Prod.* 1998; 6 (6): 257–262.
37. Mosier D. Review of BRD pathogenesis: the old and the new. *Anim. Health Res. Rev.* 2014; 15 (2): 166–168. DOI: 10.1017/S1466252314000176.
38. Mustafa R., Qi J., Ba X., Chen Y., Hu C., Liu X., et al. *In vitro* quinolones susceptibility analysis of Chinese *Mycoplasma bovis* isolates and their phylogenetic scenarios based upon QRDRs of DNA topoisomerases revealing a unique transition in ParC. *Pak. Vet. J.* 2013; 33 (3): 364–369.
39. Zhang X. H., Pan J. Z., Wu N., Tang S., Lei X. D., Sun Y. Y. et al. Investigation of the efficiency and safety of tilmicosin phosphate in treating experimental mycoplasma infections in pigs. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2018; 42 (6): 571–580. DOI: 10.3906/vet-1804-76.
40. MacInnes J. I., Paradis M. A., Vessie G. H., Slavic L., Watson S., Wilson J. B., et al. Efficacy of prophylactic tilmicosin in the control of experimentally induced *Haemophilus parasuis* infection in pigs. *J. Swine Health Prod.* 2003; 11 (4): 174–180.
41. Olson L. B., Bäckström L. R. The effect of tilmicosin in minimizing atrophic rhinitis, pneumonia, and pleuritis in swine. *J. Swine Health Prod.* 2000; 8 (6): 263–268.

Поступила в редакцию / Received 20.12.2021

Поступила после рецензирования / Revised 22.02.2022

Принята к публикации / Accepted 04.04.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Агольцов Валерий Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры болезней животных и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ», г. Саратов, Россия.

Падило Лариса Павловна, ассистент кафедры болезней животных и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ», г. Саратов, Россия.

Бирюкова Оксана Петровна, кандидат ветеринарных наук, доцент, доцент кафедры болезней животных и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ», г. Саратов, Россия.

Лигидова Марьяна Мухамедовна, аспирант кафедры болезней животных и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ», г. Саратов, Россия.

Valeriy A. Agoltsov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Professor of the Department of Animal Diseases and Veterinary Sanitary Examination, FSBEU HE Saratov SAU, Saratov, Russia.

Larisa P. Padilo, Assistant of the Department of Animal Diseases and Veterinary Sanitary Examination, FSBEU HE Saratov SAU, Saratov, Russia.

Oksana P. Biryukova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Associate Professor of the Department of Animal Diseases and Veterinary Sanitary Examination, FSBEU HE Saratov SAU, Saratov, Russia.

Maryana M. Ligidova, Post-Graduate Student, Department of Animal Diseases and Veterinary Sanitary Examination, FSBEU HE Saratov SAU, Saratov, Russia



Биологические особенности коронавирусов сельскохозяйственных, домашних животных и птиц: сравнительная оценка характера вызываемых ими патологических процессов (обзор)

Х. З. Гаффаров¹, А. И. Яруллин², В. Г. Гумеров³, И. Г. Каримуллина⁴

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), г. Казань, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0001-8995-6364>, e-mail: gaffarxz@vnivi.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-1717-0498>, e-mail: yarulinai@vnivi.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5878-4299>, e-mail: gumervg@vnivi.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-6771-3457>, e-mail: karimuig@vnivi.ru

РЕЗЮМЕ

Болезни, вызываемые коронавирусами, могут наносить значительный ущерб сельскому хозяйству, обусловленный высокой (доходящей до 100%) летальностью среди молодняка. Представители семейства *Coronaviridae* характеризуются тем, что поражают широкий спектр животных и птиц, при этом отмечается выраженное видовое ограничение патогенности. Еще одной особенностью коронавирусов является способность поражать не один, а сразу несколько органов. Также существует четкая зависимость тяжести течения болезни от возраста восприимчивого животного и интенсивности патологических процессов. Так, заболевания, вызываемые данными вирусами, чаще всего имеют острое течение у новорожденных животных и молодняка, у взрослых особей они нередко переходят в хроническую и латентную формы. Общее свойство всех болезней, индуцированных коронавирусами, — острое нарушение капиллярного кровообращения в пораженном органе, становящееся основой развития дальнейшего патологического процесса. В предлагаемой обзорной статье представлена краткая информация об истории открытия и изучения вирусов семейства *Coronaviridae*, приведена таксономия коронавирусов. В работе рассматривается строение, физико-химические и биологические свойства данных вирусов, изложены особенности их культивирования *in vitro*, некоторые биохимические аспекты репликации, анализируется процесс размножения в восприимчивых клетках. Кроме того, обобщены некоторые данные об антигенной структуре и иммуногенности, о наличии родственных антигенов у коронавирусов, поражающих человека, животных и птиц. В статье приводятся данные о значительной роли коронавирусов в патологии сельскохозяйственных животных и подчеркивается их экономическое значение, особенно в условиях промышленного свиноводства и птицеводства.

Ключевые слова: обзор, коронавирусы, млекопитающие, птицы, иммунитет, клиническая картина

Для цитирования: Гаффаров Х. З., Яруллин А. И., Гумеров В. Г., Каримуллина И. Г. Биологические особенности коронавирусов сельскохозяйственных, домашних животных и птиц: сравнительная оценка характера вызываемых ими патологических процессов (обзор). *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 176–185. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-176-185.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Яруллин Айнура Ильнурович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусных заболеваний животных ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, Россия, г. Казань, ул. Научный городок, 2, e-mail: yarulinai@vnivi.ru.

Biological properties of coronaviruses of farm, domestic animals and birds: comparative characterization of pathology they induce (review)

Kh. Z. Gaffarov¹, A. I. Yarullin², V. G. Gumerov³, I. G. Karimullina⁴

FSBSI "Federal Center for toxicological, radiation, and biological safety" (FSBSI "FCTRBS-ARRVI"), Kazan, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0001-8995-6364>, e-mail: gaffarxz@vnivi.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-1717-0498>, e-mail: yarulinai@vnivi.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5878-4299>, e-mail: gumervg@vnivi.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-6771-3457>, e-mail: karimuig@vnivi.ru

SUMMARY

Coronavirus induced diseases can cause significant damage to agriculture that is associated with high (up to 100%) lethality in young animals. Members of the family *Coronaviridae* are characterized by the fact that they infect a wide range of animals and birds with expressed species-limited pathogenicity. One more coronavirus specificity involves their ability to simultaneously affect more than one organ. The disease severity is also strongly correlated with the age of the susceptible animal and degree of pathology. Thus, the coronavirus induced diseases are most often acute in newborn and young animals, while such diseases often develop into chronic and latent forms in adult animals. The general property of all coronavirus-induced diseases involves acute impairment of capillary circulation in the affected organ thus leading to the development of further pathology. The proposed review demonstrates brief overview of the history of discovery and examination of the viruses of *Coronaviridae* family and describes the coronavirus taxonomy. The paper reviews the virus structure, physico-chemical and biological properties; it describes specific features of their cultivation *in vitro*, some biochemical aspects of the virus replication and analyses the process of their propagation in the sensitive cells. Some data on the virus antigen structure and immunogenicity, on the presence of related antigens in the coronaviruses infecting humans, animals and birds are demonstrated as well. The paper provides data on the significant role the coronaviruses play in the pathology of farm animals and stresses their economic relevance, in particular for the commercial pig and poultry production.

Keywords: review, coronaviruses, mammals, avian, immunity, clinical picture

For citation: Gaffarov Kh. Z., Yarullin A. I., Gumerov V. G., Karimullina I. G. Biological properties of coronaviruses of farm, domestic animals and birds: comparative characterization of pathology they induce (review). *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 176–185. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-176-185.

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

For correspondence: Ainur I. Yarullin, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Viral Diseases of Animals, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", 420075, Russia, Kazan, ul. Nauchny Gorodok, 2, e-mail: yarullina@vni.vi.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Углубляясь в историю вопроса, следует отметить, что коронавирусы, поражающие животных, и особенно птиц, были обнаружены и изучены раньше, чем коронавирусы человека. Некоторые из них интенсивно исследовались и служили модельной системой при изучении молекулярной биологии всей группы этих вирусов [1].

Первый представитель семейства коронавирусов был изолирован при изучении этиологии инфекционного бронхита кур (ИБК) – Infectious Bronchitis Virus (IBV). Вирусная природа этого высококонтагиозного и нередко смертельного для молодняка кур заболевания была доказана американскими учеными [2, 3]. В дальнейшем при электронной микроскопии суспензии вируса ИБК методом негативного контрастирования другими исследователями [4] были обнаружены вирусные частицы преимущественно округлой или овальной формы с плотной мембраной, покрытые булавовидными выступами – ворсинками (рис. 1).

В следующие годы новое семейство продолжало пополняться инфекционными агентами, изолированными от людей и животных [5]. Начиная с 1965 г. в литературе стали появляться сообщения о выделении вирусов от больных людей, проявляющих признаки острых респираторных заболеваний [6]. Один из таких вирусных агентов, полученный от больного подростка и прошедший 3 пассажа на добровольцах, был обозначен как B814. Этот штамм и штаммы 229E, OC38, OC43, выделенные американскими исследователями D. Hamre and J. J. Procknow [7] в культуре клеток почки эмбриона человека, оказались схожи между собой по строению. Дальнейшее их изучение показало морфологическую общность данных изолятов с вирусом ИБК. В этой связи появились предпосылки для их объединения в одну таксономическую группу.

В ходе сравнительного изучения, проведенного группой авторов, правомерность такого объединения

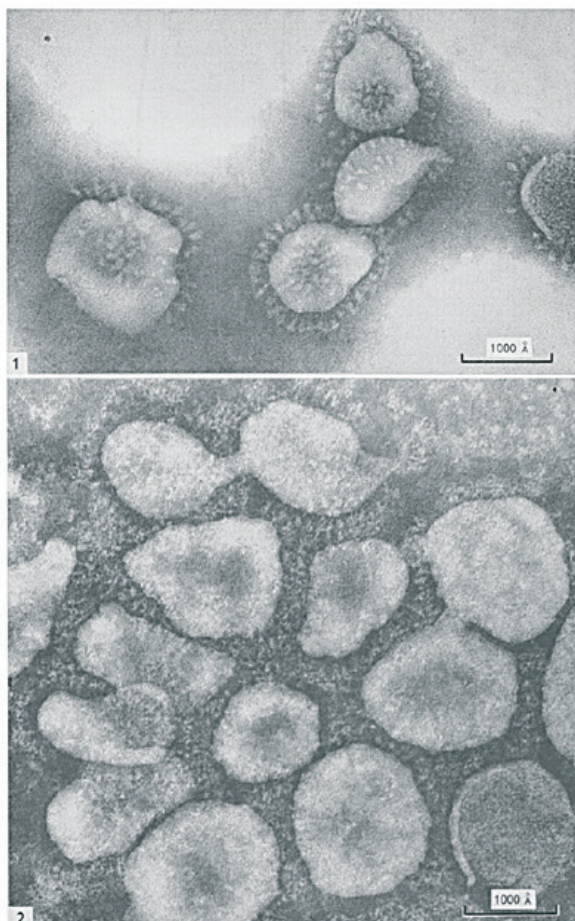


Рис. 1. Общий вид вириона вируса инфекционного бронхита кур. Негативное контрастирование [4]

Fig. 1. General view of the infectious bronchitis virus virion. Negative staining [4]

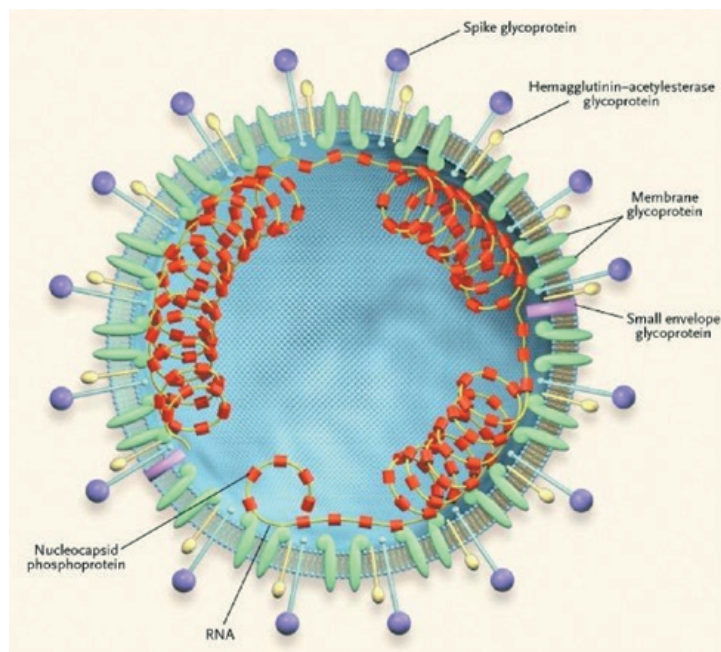


Рис. 2. Структура коронавируса [11]

Fig. 2. Coronavirus structure [11]

подтвердилась, кроме того, было установлено, что в эту же группу в дополнение к уже известным можно отнести вирус гепатита мышей, имеющий аналогичную форму и строение [8].

Несмотря на разных естественных хозяев вирусов и вызываемые ими болезни, наблюдается общность не только их строения, но и ряда биологических признаков. Было выбрано пять основных определяющих критериев:

- средний размер вириона 80–160 нм;
- одноцепочечная РНК;
- наличие мембраны;
- форма вирионов в виде округлых телец с характерной короной из булавовидных выступов;
- репродукция вируса в цитоплазме с почкованием внутри цитоплазматических вакуолей.

Группу инфекционных агентов с подобным строением в 1968 г. было предложено назвать коронавирусами, что подчеркивало своеобразие присущей им формы. В 1976 г. Международный комитет по таксономии вирусов (ICTV) присвоил коронавирусам статус семейства. В дальнейшем в него были включены и другие вирусы, выделенные от животных и птиц, а также возбудители, выявленные при изучении контаминации клеточных культур различного происхождения.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА КОРОНАВИРУСОВ

Коронавирусы (CoV; семейство *Coronaviridae*) относятся к отряду *Nidovirales*, который включает в себя крупные оболочечные РНК-содержащие вирусы. По данным Д. К. Львова и соавт., этот отряд объединяет три семейства, одно из которых – *Coronaviridae*, включающее, в свою очередь, два подсемейства и 8 родов [9]. Для обозначения четырех родов семейства коронавирусов ICTV предложил использовать буквы греческого алфавита: alpha, beta, gamma и delta [10]. Как уже сообщалось выше, вирусы, относящиеся к семейству

Coronaviridae, имеют общие биологические признаки и сходство в морфологическом строении. Вирион коронавирусов сферической формы (120–160 нм) с характерными выростами – пепломерами (15–20 нм), образующими зубчатое обрамление. Их форма и расстояние между булавовидными выступами служат дифференциальными структурными признаками, которые позволяют при негативном контрастировании отличать коронавирусы от орто- и парамиксовирусов.

Коронавирусный нуклеокапсид представляет собой протяженную гибкую спираль, содержащую геномную положительную РНК (молекулярная масса $5,5 \times 10^6$) и большое число молекул фосфорилированного нуклеокапсидного белка N (50–60 К). Вирусная оболочка состоит из липидного биослоя, образующегося из внутриклеточной мембраны клетки-хозяина, и двух вирусных гликопротеинов: E1 (20–30 К) и E2 (180–200 К); пепломеры – из молекул E2. Матриксный гликопротеин E1 пронизывает липидный биослой и взаимодействует с нуклеокапсидом внутри вирусной частицы [11] (рис. 2).

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КОРОНАВИРУСОВ

Коронавирусы относятся к инфекционным агентам с умеренной степенью устойчивости во внешней среде. Все представители данного семейства хорошо переносят лиофилизацию под вакуумом и в высушенном виде сохраняются при температуре 4 °C в течение нескольких лет. Коронавирусы инактивируются ультрафиолетовыми лучами. Время, необходимое для полной потери инфекционной активности, зависит от расстояния до источника облучения. Более длительная экспозиция (100–120 мин) сопровождается полной деструкцией вириона гемагглютинирующего вируса энцефаломии свиней (ГВЭС), исчезновением его инфекционной и гемагглютинирующей активности [12]. Солнечные лучи также разрушают коронавирусы, однако процесс проходит довольно медленно, и даже для небольших концентраций вируса требуется не менее 3 ч при температуре 37–38 °C, чтобы полностью его инактивировать [13].

Данные о влиянии концентрации ионов водорода на стабильность коронавирусов неоднородны. Большинство исследователей придерживаются мнения, что для всех представителей данного семейства диапазон pH 7,0–7,5 является оптимальным. Все виды коронавирусов разрушаются жирорастворителями: при обработке твином, эфиром, хлороформом они полностью инактивируются [14].

Ионные и неионные детергенты – Triton X-100, додецилсульфат натрия, дезоксихолат, Nonidet P-40 – разрушают коронавирусы [15]. Представители данного семейства вирусов достаточно резистентны к действию протеаз (трипсина, пепсина) и амилазы, но разрушаются фосфолипазой C.

Коронавирусы инактивируют следующими дезинфицирующими средствами: 1%-ми растворами фенола, крезола и формалина, 70%-м этиловым спиртом, мыльно-карболовым раствором и 10%-м раствором соды, при экспозиции 3–10 мин [16].

Исследование выживаемости коронавирусов во внешней среде на модели вируса ИБК, проведенное Т. Т. Сатылгановым, показало, что в воздухе в виде аэрозоля они не теряют инфекционной активности в течение 8–10 ч, в питьевой воде – значительно дол-

ше, до 9 сут, а на твердых и мягких предметах (пух, перо, скорлупа, дерево) – до 12 сут [17].

Весной вне помещений при температуре 0–18 °С и относительной влажности 49–84% вирус инактивируется в течение 4–11 сут; летом при температуре 10–23 °С и влажности 68–90% – 3–9 сут; зимой сохраняет активность в течение 33–44 сут. При обработке инфицированных поверхностей растворами хлорной извести, содержащими 3% активного хлора, требовалось 6 ч для эффективной дезинфекции; при обработке растворами 0,5%-го формальдегида и 3%-го тетраоксида калия – 3 ч, а раствор гипохлорита натрия с содержанием 1,5% активного хлора дезинфицировал поверхности за 1 ч. При применении аэрозолей время экспозиции увеличивалось. Так, при использовании аэрозоля гипохлорита натрия с содержанием 5% активного хлора был необходим 12-часовой контакт с обеззараживаемой поверхностью для надежной инактивации вируса ИБК [17].

ОСОБЕННОСТИ РЕПРОДУКЦИИ КОРОНАВИРУСОВ

Впервые биохимические аспекты репликации коронавируса были изучены W. B. Becker et al. при исследовании зараженных вирусом ИБК клеток хориоантлантоидной оболочки куриного эмбриона [18]. Было установлено, что вирус почкуется в цистерны эндоплазматической сети и цитоплазматические пузырьки, а не через плазматическую мембрану. Перед почкованием в мембране появляется четко выраженный утолщенный серповидный слой белка [19, 20]. Результаты дальнейших исследований разных авторов показали, что коронавирусы прикрепляются к рецепторам клеточ-мишеней концами своих Е2-пепломеров [21–23]. Вирус проникает в клетку путем слияния вирусной оболочки с плазматической мембраной или посредством эндоцитоза [1].

У всех вирусов, содержащих положительную РНК, после проникновения в клетку первым этапом вирусного цикла является прикрепление геномной РНК к рибосомам, что приводит к синтезу вирусной РНК-зависимой РНК-полимеразы вируса [24].

Нуклеокапсидный белок N и некоторые неструктурные белки синтезируются, по-видимому, на полисомах в цитоплазматическом матриксе [25, 26]. Синтез гликопротеинов Е1 и Е2 происходит на полисомах, прикрепленных к шероховатому эндоплазматическому ретикулуму (ШЭР). Спиральный нуклеокапсид коронавируса образуется в цитоплазме зараженных клеток благодаря взаимодействию вновь синтезированных РНК с молекулами белка N. Нуклеокапсид обладает гибкой, довольно рыхлой структурой и чувствителен к действию РНКазы, его плотность составляет 1,24–1,29 г/см³ [27, 28].

Вирионы коронавируса образуются при почковании от мембран ШЭР и/или аппарата Гольджи [18] (рис. 3).

На мембранах ШЭР или аппарата Гольджи белки клетки-хозяина исключаются из почкующихся вирионов и замещаются вирусными гликопротеинами, взаимодействие нуклеокапсида и мембран ШЭР или аппарата Гольджи осуществляется с помощью цитоплазматического домена гликопротеина Е1. Почкование коронавируса происходит только на тех внутриклеточных мембранах, на которых локализованы

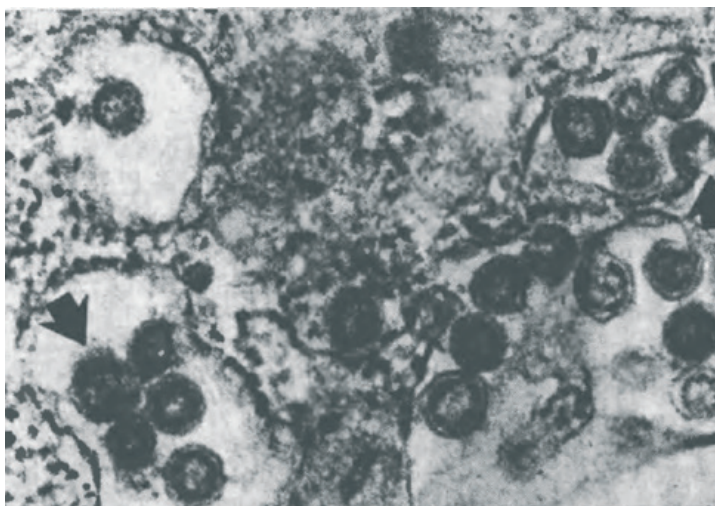


Рис. 3. Клетка, зараженная респираторным коронавирусом человека HCoV-229E. На мембранах ШЭР и гладких везикул наблюдается почкование сферических вирионов коронавируса (стрелки). Внутри вирионов видны электроплотные нуклеокапсиды. Прежде чем выйти из клетки при помощи экзоцитоза или клеточного лизиса, вирионы выходят в полость ШЭР или проходят через аппарат Гольджи (увеличение 60 000×) [21]

Fig. 3. A cell infected with the human respiratory coronavirus HCoV-229E. Budding of the coronavirus spherical virions (arrows) is observed on the membranes of RER and smooth vesicles. Inside the virions, electron-dense nucleocapsids are visible. Before leaving the cell due to exocytosis or cell lysis, the virions enter the RER cavity or pass through the Golgi apparatus (magnification 60 000×) [21]

молекулы Е1 [29–32]. На плазматической мембране может накапливаться большое количество Е2, но на них никогда не происходит почкования вирионов, вероятно, потому, что там нет свободного Е1. Сферические почкующиеся вирионы, которые содержат собранный нуклеокапсид, «проталкиваются» в полость ШЭР и аппарата Гольджи, затем переходят в гладкие пузырьки (везикулы) и мигрируют к краю клетки, где сливаются с плазматической мембраной, в результате чего во внеклеточное пространство выходит большое количество вирионов [14, 33, 34].

Нередко вирионы высвобождаются из клетки только при ее гибели, однако коронавирусы способны выходить также из неразрушенных клеток, по-видимому, с помощью механизма клеточной секреции [31, 32, 35, 36]. Способность коронавируса покидать незлированную клетку является важным фактором, обеспечивающим возможность умеренной (нецитопатической) инфекции. На плазматической мембране зараженных клеток наблюдается большое количество вирионов, которые не почкуются от нее, а скорее всего, адсорбируются на ней уже после выхода из зараженных клеток [37].

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ КОРОНАВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

У коронавирусов, как и у других вирусов, имеющих оболочку, сложный антигенный состав. Проведенные исследования людей и животных, перенесших естественную коронавирусную инфекцию или искусственно инфицированных коронавирусами, свидетельствуют о том, что антигены способны инициировать выработку

вируснейтрализующих, комплементсвязывающих, преципитирующих, лизирующих и антигемагглютинирующих антител. Иммунологическая реакция развивается достаточно быстро: сравнительно высокие титры антител в крови могут быть отмечены к 10–15-му дню после инфицирования или иммунизации. Механизм действия антител изучался посредством прямого наблюдения в электронном микроскопе. Так, было показано, что сыворотки переболевших или иммунизированных птиц не только обладают вируснейтрализующими свойствами, но и способны вызывать хорошо видимую при микроскопии агглютинацию вирионов коронавирусов [4]. Кроме того, установлены отличия в действии гомо- и гетерологических сывороток, что указывает на неоднородность структуры мембран коронавирусов, существование в ней определенных локусов, где сосредоточены наиболее активные антигены. Специфические кодируемые вирусами полноценные антигены локализируются на дистальных концах ворсинок. Эти данные, полученные при изучении вируса ИБК, были подтверждены на модели другого коронавируса птиц – вируса энтерита индюков [38].

Общие представления об антигенных свойствах разных видов коронавирусов основаны на сравнительном изучении степени родства разных штаммов, проведенном в реакциях нейтрализации, связывания комплемента, реже торможения геагглютинации, и наблюдении за эффектом перекрестной резистентности *in vivo* [4, 14].

Коронавирусы, вызывающие энцефаломиелит свиней (ЭС), трансмиссивный гастроэнтерит свиней (ТГС) и эпизоотическую диарею свиней (ЭДС), по одним данным, являются самостоятельными в антигенном отношении видами, по другим – содержат общие антигены [39–48]. При сравнительном изучении штаммов ГВЭС, выявленных в разных странах, в том числе в США, Англии и Японии, установлено, что они сходны по антигенной структуре и отнесены к одному серотипу [39, 40]. У вируса ТГС антигенная вариабельность не установлена: штаммы, выделенные от животных в разных странах, серологически идентичны [41]. В 1986 г. был выделен и идентифицирован ТГС-подобный респираторный коронавирус свиней (РКВС), который обладал антигенным родством с вирусом ТГС и индуцировал нейтрализующие его антитела. Основным отличием нового коронавируса являлась его исключительная пневмотропность при отсутствии энтеропатогенности [42, 47]. Оба вируса сходны между собой в антигенном отношении и имеют нейтрализующие эпитопы в основных вирионных белках (N, S и M) [47].

Среди коронавирусов млекопитающих вирус ТГС проявляет родство с кишечным коронавирусом собак, вирусом инфекционного перитонита кошек и респираторным коронавирусом людей, вызванным штаммом 229E [43, 44]. Антитела, появляющиеся в крови собак после инфицирования коронавирусом, способны нейтрализовать вирус ТГС [45].

Представления об антигенной и геномной гомологии представителей семейства *Coronaviridae* основаны на их сравнительном изучении с использованием различных современных методов. В результате определена типовая (для вируса одного вида), групповая (для группы антигенно родственных вирусов ТГС и РКВС) и межвидовая (коронавирусы собак, кошек, свиней) антигенная общность.

Вопрос об антигенном родстве коронавирусов человека и животных представляет особый интерес. Установлено, что коронавирусы человека серологически связаны с коронавирусами крупного рогатого скота, мышей, а также ГВЭС [1].

Коронавирусы грызунов (вирус гепатита мышей и коронавирус крыс) антигенно родственны между собой и с коронавирусом человека [49].

Энтеропатогенные коронавирусы индеек и крупного рогатого скота также обладают антигенным родством. Двусторонняя антигенная связь установлена между коронавирусом индеек и коронавирусами кур и мышей.

Установлено, что генетическая рекомбинация происходит с высокой частотой между геномами различных, но родственных между собой коронавирусов. Это может быть важным механизмом появления генетически измененных вирусов в природе [47].

ЗНАЧЕНИЕ КОРОНАВИРУСОВ В ПАТОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ

Основным заболеванием коронавирусной природы у свиней является *трансмиссивный гастроэнтерит свиней*, проявляющийся рвотой, изнурительной диареей, дегидратацией организма, высокой смертностью, особенно среди поросят в первые 10 дней жизни. При первичных вспышках заболеваемость и гибель среди новорожденных поросят может достигать 100%, в этом случае хозяйство остается практически без приплода [33, 44].

Особенностью патогенеза ТГС является способность вируса размножаться также в респираторном тракте свиней – эпителиальных клетках слизистой оболочки носовой полости и легких [50, 51]. В опытах *in vitro* установлено, что вирус ТГС реплицируется в культуре альвеолярных макрофагов свиней. Это подтверждает, что вирус поражает не только кишечник [44, 52–54].

В качестве наиболее вероятного резервуара вируса ТГС в межэпизоотический период обычно рассматривают откормочных свиней, заболевание у которых поддерживается в энзоотической или бессимптомной формах [44]. Резервуаром возбудителя инфекции могут выступать стада с системой непрерывных опоросов [55].

Другой коронавирус свиней, обладающий геагглютинирующим свойством, вызывает тяжелое заболевание, в настоящее время известное как *энцефаломиелит* свиней [34, 49, 56]. Вспышку болезни в провинции Онтарио (Канада) с клинической картиной энцефаломиелита поросят 4–7-суточного возраста впервые описали A. S. Greig et al. [57].

Геагглютинирующий вирус энцефаломиелита свиней выделен в Польше в 1971 г. от больных новорожденных поросят, а также изолирован из носовых раковин свиней с симптомами атрофического ринита в 1972 г. в США. Эта коронавирусная инфекция характеризуется высокой контагиозностью (близкой к 100%) и проявляется рвотой, анорексией, запором и прогрессирующим истощением животных. Болезнь поражает в основном поросят не старше 2-недельного возраста [57]. По данным С. K. Roe and T. J. Alexander, смертность поросят этого возраста достигает 100% [58], а результаты исследований других авторов указывают на то, что данный показатель несколько варьирует [59].

Инкубационный период заболевания длится, как правило, не более 5–6 сут. Иногда в первые 2–3 сут рвота и потеря аппетита являются ведущими симптомами, однако потом на первый план выступают признаки тяжелого поражения ЦНС.

Вирус размножается в культурах клеток щитовидной железы свиней, легких эмбриона свиней, перевиваемой линии клеток тестикул поросенка, линии клеток почки поросенка PK-15. При репродукции в культуре клеток почки поросенка образует гигантские клетки [60].

Коронавирусный энтерит телят. В 1972 г. американскими исследователями С. А. Mebus et al. впервые установлено, что диспепсию новорожденных телят может вызывать коронавирус [61, 62]. Первичная этиологическая роль этого агента была доказана при экспериментальном заражении коронавирусом телят в естественных условиях, а также новорожденных, лишенных молозива, и гнотобионтов [63].

Несмотря на то что самым характерным клиническим признаком коронавирусного энтерита телят является диарея, вирус поражает не только кишечник, но и респираторный тракт животных. Возбудитель размножается преимущественно в дистальной части тонкого и толстого кишечника, эпителиальных клетках слизистой оболочки носовой полости, трахеи и легких. Коронавирусы крупного рогатого скота могут вызывать развитие латентной инфекции. Клинически здоровое животное может быть хроническим носителем вируса, выделяя его с фекалиями в течение 7 месяцев [64].

Mebus C. A. et al. описали патолого-анатомические изменения у телят-гнотобионтов, инфицированных возбудителем коронавирусного энтерита [61]. Развитие болезни было подтверждено методом иммунофлуоресценции и электронно-микроскопическими исследованиями ультратонких срезов из стенок кишечника телят с признаками острой диареи, вынужденно убитых в разные сроки после заражения, в том числе на пике клинической картины. Специфическое свечение наблюдалось в эпителиальных клетках ворсинок тонкого кишечника уже через 4 ч после инфицирования и достигало максимальной интенсивности к 44-му ч. При электронно-микроскопическом исследовании клеток слизистой оболочки тонкого кишечника в ретикуло-эндотелиальных клетках мезентериальных лимфоузлов обнаруживали вирусные частицы, находившиеся в цитоплазматических вакуолях, больших цистернах и околоклеточном пространстве [65, 66].

Наиболее полно изучен представитель коронавирусов птиц, вызывающий *инфекционный бронхит кур (ИБК)*. Основными клиническими признаками заболевания являются воспаление воздушных мешков, ринит, кашель со слизистой мокротой, чихание, конъюнктивит, удушье, угнетенное состояние. Заболевание имеет короткий инкубационный период – в среднем 18–36 ч. Птицы разного возраста болеют неодинаково: у 1–5-недельных цыплят смертность достигает 25–40%. Заболевание высококонтагиозно, и уже в первые дни после начала вспышки у 70–90% цыплят развиваются отчетливые клинические признаки. У взрослых кур несущее заболевание протекает с менее выраженным респираторным синдромом и, как правило, смертность среди них невысокая. У птиц наблюдается вялость, потеря аппетита, чихание, истечение из носа, снижается

яйценоскость [19, 67, 68]. Именно потеря яйценоскости является наиболее пагубным последствием коронавирусной инфекции.

Коронавирусный энтерит («синий гребень») индюков. Заболевание впервые зарегистрировали в 1951 г. в США. В 1953 г. был изолирован вирус [69], который в 1974 г. отнесли к семейству коронавирусов. Во всех случаях было отмечено, что это высококонтагиозное заболевание, поражающее 90–100% популяции птенцов и взрослых птиц [70]. Вспышка, как правило, возникает внезапно, и уже через 3–5 дней все восприимчивое поголовье оказывается заражено. Инкубационный период длится 48–72 ч. Заболевание начинается с повышения температуры, индейки отказываются от корма и питья, наблюдается расстройство деятельности желудочно-кишечного тракта (диарея), слабость, цианоз гребня и уменьшение массы тела [71].

Инфекционный перитонит кошек – это высококонтагиозное заболевание впервые описано в 1966 г. американскими исследователями L. G. Wolfe and R. A. Griesemer [72]. Наиболее типичными его признаками являются асцит, анорексия, уменьшение массы тела, флуктуирующая температура, сопровождающаяся угнетенным состоянием. В некоторых случаях у больных животных возникает рвота, диарея, анемия и желтуха. Заболевание, как правило, прогрессирует медленно и длится 3–4 месяца. Летальность среди заболевших кошек довольно высокая. При электронно-микроскопическом исследовании тканей вынужденно убитых кошек В. С. Zook et al. обнаружили в клетках печени, селезенки и кишечника вирусные частицы, морфологически неотличимые от коронавирусов [73], а J. M. Ward доказал существование этиологической связи между этими агентами и инфекционным перитонитом кошек [74].

Этиологическим агентом *коронавирусного энтерита собак* является представитель семейства *Coronaviridae*. Возбудитель был впервые выделен в США в 1971 г. Вирус хорошо размножается в культуре клеток почки собаки. При экспериментальном заражении патоген вызывает у щенков диарею вследствие разрушения зрелых клеток ворсинок тонкого отдела кишечника. Коронавирус собак имеет антигенное родство с вирусом трансмиссивного гастроэнтерита свиней, респираторным коронавирусом свиней и вирусом инфекционного перитонита кошек [75].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обобщая представленную в статье информацию, необходимо отметить, что характерной чертой коронавирусов является широкий спектр их естественных хозяев в сочетании с выраженным видовым ограничением патогенности. По способности поражать разные органы коронавирусы могут быть отнесены к пантропным вирусам [1]. Заболевания, вызываемые ими, имеют в основном острое течение, но могут переходить в хронические и латентные формы. Всем видам коронавирусов присуща четкая зависимость тяжести течения болезни от возраста восприимчивого животного и интенсивности патологических процессов. Так, тяжелые бронхиты наблюдались только у цыплят (вирус ИБК), смертельные гепатиты – у новорожденных мышат (вирус гепатита мышей), смертельные пневмонии – у новорожденных крысят (коронавирус крыс), тяжелые смертельные гастроэнтериты и энцефаломиелиты –

только у поросят (вирус ТГС и ГВЭС), смертельная диарея – лишь у новорожденных телят (возбудитель коронавирусного энтерита телят). У взрослых особей тех же видов инфекция проходила в стертой форме или протекала инapparантно.

Во всех описанных случаях заболеваний, обусловленных разными видами коронавирусов, есть общее – острое нарушение капиллярного кровообращения в пораженном органе, лежащее в основе патологического процесса, вызванного возбудителем. Следствием этого является отек органа, профузная серозная экссудация, а в наиболее выраженных случаях – некроз и отторжение выстилки. Аналогичные явления наблюдались и при болезни «синего гребня» индеек, когда цианоз гребня и общая астенция были связаны с истощающим энтеритом и профузной диареей [14].

По каждому из рассмотренных в статье видов коронавирусов накопился определенный объем разнообразной информации, позволяющей провести сравнительный анализ их свойств, строения, антигенных взаимосвязей и составить представление об их роли в патологии сельскохозяйственных, домашних животных и птиц. Однако даже те патологические синдромы, которые в настоящее время можно с достоверностью связать с коронавирусами, свидетельствуют о большом уроне, наносимом данными патогенами сельскому хозяйству.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Закстельская Л. Я., Шеболов А. В. Коронавирусы человека и животных. М.: Медицина; 1977. 224 с.
2. Beach J. R., Schalm O. W. A filterable virus, distinct from that of laryngotracheitis, the cause of a respiratory disease of chicks. *Poultry Science*. 1936; 15 (3): 199–206. DOI: 10.3382/ps.0150199.
3. Beaudette F. R., Hudson C. B. Cultivation of the virus of infectious bronchitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1937; 90: 51–60.
4. Berry D. M., Almeida J. D. The morphological and biological effects of various antisera on avian infectious bronchitis virus. *J. Gen. Virol.* 1968; 3 (1): 97–102. DOI: 10.1099/0022-1317-3-1-97.
5. Gledhill A. K., Andrews C. H. A hepatitis virus of mice. *Br. J. Exp. Pathol.* 1951; 32 (6): 559–568. PMID: 14895796. PMID: PMC2073177.
6. Hamre D., Procknow J. J. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1966; 121 (1): 190–193. DOI: 10.3181/00379727-121-30734.
7. Almeida J. D., Tyrrell D. A. The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture. *J. Gen. Virol.* 1967; 1 (2): 175–178. DOI: 10.1099/0022-1317-1-2-175.
8. Львов Д. К., Альховский С. В., Колобухина Л. В., Бурцева Е. И. Этиология эпидемической вспышки COVID-19 в г. Ухань (провинция Хубэй, Китайская Народная Республика), ассоциированной с вирусом 2019-nCoV (*Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus*, подрод *Sarbecovirus*): уроки эпидемии SARS-CoV. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65 (1): 6–15. DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-1-6-15.
9. Гильмутдинов Р. Я., Галиуллин А. К., Спиридонов Г. Н. Коронавирусные инфекции диких птиц. *Ветеринарный врач*. 2020; 6: 57–67. DOI: 10.33632/1998-698X.2020-6-57-67.
10. Tyrrell D. A., Bynoe M. L. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br. Med. J.* 1965; 1 (5448): 1467–1470. DOI: 10.1136/bmj.1.5448.1467.
11. Holmes K. V. SARS-associated coronavirus. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348 (20): 1948–1951. DOI: 10.1056/NEJMp030078.
12. Bucknall R. A., Kalica A. R., Chanock R. M. Intracellular development and mechanism of hemadsorption of a human coronavirus, OC43. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1972; 139 (3): 811–817. DOI: 10.3181/00379727-139-36243.
13. Hofstad M. S., Adams N., Frey M. L. Studies on a filtrable agent associated with infectious enteritis (bluecomb) of turkeys. *Avian Dis.* 1969; 13 (2): 386–393. PMID: 4978767.
14. Deshmukh D. R., Pomeroy B. S. Physicochemical characterization of a bluecomb coronavirus of turkeys. *Am. J. Vet. Res.* 1974; 35 (12): 1549–1552. PMID: 4433072.
15. Kaye H. S., Hierholzer J. C., Dowdle W. R. Purification and further characterization of an "IBV-like" virus (coronavirus). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1970; 135 (2): 457–463. DOI: 10.3181/00379727-135-35074.
16. Fritzsche K. O., Stumpel M. E. M., Toucas L. J. M., Billon I. Vergleichende Untersuchungen über die Pathogenität, die Histopathogenese und das Immunisierungsvermögen von zwei attenuierten Virusstämmen der infektiösen Bronchitis der Hühner. *Zbl. Vet. Med., Reihe B*. 1969; 16 (3): 193–212. DOI: 10.1111/j.1439-0450.1969.tb00104.x. (in German)
17. Сатылганов Т. Т. Ветеринарно-санитарные мероприятия при инфекционном бронхите птиц. *Ветеринария*. 1971; 2: 36–37.
18. Becker W. B., McIntosh K., Dees J. H., Chanock R. M. Morphogenesis of avian infectious bronchitis virus and a related human virus (strain 229E). *J. Virol.* 1967; 1 (5): 1019–1027. DOI: 10.1128/JVI.1.5.1019-1027.1967.
19. Сюрин В. Н., Белоусова Р. В., Фомина Н. В. Диагностика вирусных болезней животных: справочник. М.: Агропромиздат; 1991. 527 с.
20. DuBoise R. T. Adaptation of the Massachusetts strain of infectious bronchitis virus to turkey embryos. *Avian Dis.* 1967; 11 (1): 28–37. PMID: 6067604.
21. David-Ferreira J. F., Manaker R. A. An electron microscope study of the development of a mouse hepatitis virus in tissue culture cells. *J. Cell. Biol.* 1965; 24 (1): 57–78. DOI: 10.1083/jcb.24.1.57.
22. Mengeling W. L., Boothe A. D., Ritchie A. E. Characteristics of a coronavirus (strain 67N) of pigs. *Am. J. Vet. Res.* 1972; 33 (2): 297–308. PMID: 4551084.
23. Talbot P. J., Salmi A. A., Knobler R. L., Buchmeier M. J. Topographical mapping of epitopes on the glycoproteins of murine hepatitis virus-4 (strain JHM): correlation with biological activities. *Virology*. 1984; 132 (2): 250–260. DOI: 10.1016/0042-6822(84)90032-1.
24. Strauss E. G., Strauss J. H. Replication strategies of the single stranded RNA viruses of eukaryotes. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1983; 105: 1–98. DOI: 10.1007/978-3-642-69159-1_1.
25. Leibowitz J. L., Weiss S. R., Paavola E., Bond C. W. Cell-free translation of murine coronavirus RNA. *J. Virol.* 1982; 43 (3): 905–913. DOI: 10.1128/JVI.43.3.905-913.1982.
26. Siddell S. Coronavirus JHM: coding assignments of subgenomic mRNAs. *J. Gen. Virol.* 1983; 64 (Pt. 1): 113–125. DOI: 10.1099/0022-1317-64-1-113.
27. Sturman L. S., Holmes K. V., Behnke J. Isolation of coronavirus envelope glycoproteins and interaction with the viral nucleocapsid. *J. Virol.* 1980; 33 (1): 449–462. DOI: 10.1128/JVI.33.1.449-462.1980.
28. Caul E. O., Ashley C. R., Ferguson M., Egglestone S. I. Preliminary studies on the isolation of coronavirus 229E nucleocapsids. *FEMS Microbiology Letters*. 1979; 5 (2): 101–105. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1979.tb03256.x.
29. Holmes K. V., Doller E. W., Behnke J. N. Analysis of the functions of coronavirus glycoproteins by differential inhibition of synthesis with tunicamycin. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1981; 142: 133–142. DOI: 10.1007/978-1-4757-0456-3_11.
30. Sturman L. S., Holmes K. V. Proteolytic cleavage of peplomeric glycoprotein E2 of MHV yields two 90K subunits and activates cell fusion. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1984; 173: 25–35. DOI: 10.1007/978-1-4615-9373-7_3.
31. Holmes K. V., Frana M. F., Robbins S. G., Sturman L. S. Coronavirus maturation. In: *Molecular biology and Pathogenesis in Coronaviruses*. Eds. P. J. M. Rottier, B. A. M. van der Zeijst, W. J. M. Spaan, M. C. Horzinek. New York and London: Plenum Press; 1984; 37–52.
32. Sturman L. S., Holmes K. V. The molecular biology of coronaviruses. *Adv. Virus. Res.* 1983; 28: 35–112. DOI: 10.1016/s0065-3527(08)60721-6.
33. Сергеев В. А., Гурбанов С. М., Непоклонов Е. А., Курносов А. Н. Суспензионное культивирование вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней. *Вопросы вирусологии*. 1989; 1: 103–106.
34. Alexander T. J., Richards W. P., Roe C. K. An encephalomyelitis of suckling pigs in Ontario. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 1959; 23 (10): 316–319. PMID: 17649182.
35. Storz J., Rott R., Kaluza G. Enhancement of plaque formation and cell fusion of an enteropathogenic coronavirus by trypsin treatment. *Infect. Immun.* 1981; 31 (3): 1214–1222. DOI: 10.1128/iai.31.3.1214-1222.1981.
36. Yoshikura H., Tejima S. Role of protease in mouse hepatitis virus-induced cell fusion. Studies with a cold-sensitive mutant isolated from a persistent infection. *Virology*. 1981; 113 (2): 503–511. DOI: 10.1016/0042-6822(81)90178-1.
37. Ultrastructure of animal viruses and bacteriophages: an atlas. Eds. A. J. Dalton, F. Hagenau. New York: Academic Press; 1973. 413 p.
38. Ritchie A. E., Deshmukh D. R., Larsen C. T., Pomeroy B. S. Electron microscopy of coronavirus-like particles characteristic of turkey bluecomb disease. *Avian Dis.* 1973; 17 (3): 546–558. PMID: 4748343.
39. McClurkin A. W., Norman J. O. Studies on transmissible gastroenteritis of swine. II. Selected characteristics of a cytopathogenic virus common to five isolates from transmissible gastroenteritis. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 1966; 30 (7): 190–198. PMID: 4224292.
40. Harada K., Kumagai T., Sasahara J. Studies on transmissible gastroenteritis in pigs. 3. Isolation of cytopathogenic virus and its use for serological investigation. *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Tokyo)*. 1967; 7 (3): 127–137. PMID: 4295384.

41. Garwes D. J. Coronaviruses in animals. In: *Virus Infections of the Gastrointestinal Tract*. Eds. by D. A. J. Tyrell, A. Z. Kapikian. New York: Marcel Dekker Inc.; 1982; 315–359.
42. Pensaert M., Callebaut P., Vergote J. Isolation of a porcine respiratory, non-enteric coronavirus related to transmissible gastroenteritis. *Vet. Q.* 1986; 8 (3): 257–261. DOI: 10.1080/01652176.1986.9694050.
43. Horzinek M. C., Lutz H., Pedersen N. C. Antigenic relationships among homologous structural polypeptides of porcine, feline, and canine coronaviruses. *Infect. Immun.* 1982; 37 (3): 1148–1155. DOI: 10.1128/iai.37.3.1148-1155.1982.
44. Bohl E. H. Transmissible gastroenteritis. In: *Diseases of Swine*. Eds. A. D. Leman et al. 5th ed. Ames: Iowa State University Press; 1981; 195–208.
45. Garwes D. J., Reynolds D. J. The polypeptide structure of canine coronavirus and its relationship to porcine transmissible gastroenteritis virus. *J. Gen. Virol.* 1981; 52 (Pt. 1): 153–157. DOI: 10.1099/0022-1317-52-1-153.
46. Pensaert M. B., Deboucq P., Reynolds D. J. An immunoelectron microscopic and immunofluorescent study on the antigenic relationship between the coronavirus-like agent, CV 777, and several coronaviruses. *Arch. Virol.* 1981; 68 (1): 45–52. DOI: 10.1007/BF01315166.
47. Сергеев В. А., Непоклонов Е. А., Алипер Т. И. Вирусы и вирусные вакцины. М.: Библионика; 2007. 524 с.
48. Pensaert M. B., Cox E. Porcine respiratory coronavirus related to transmissible gastroenteritis virus. *Agri-Practice*. 1989; 10 (2): 17–21. Available at: https://www.researchgate.net/publication/297403505_Porcine_Respiratory_Coronavirus_Related_to_Transmissible_Gastroenteritis_Virus.
49. Parker J. C., Cross S. S., Rowe W. P. Rat coronavirus (RCV): a prevalent, naturally occurring pneumotropic virus of rats. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 1970; 31 (3): 293–302. DOI: 10.1007/BF01253764.
50. Hooper B. E., Haelterman E. O. Concepts of pathogenesis and passive immunity in transmissible gastroenteritis of swine. *JAVMA*. 1966; 149: 1580–1586.
51. Душук Р. В. Трансмиссивный гастроэнтерит свиней. М.: ВНИИТЭИХ; 1981. 55 с.
52. Laude H., Charley B., Gelfi J. Replication of transmissible gastroenteritis coronavirus (TGEV) in swine alveolar macrophages. *J. Gen. Virol.* 1984; 65 (Pt. 2): 327–332. DOI: 10.1099/0022-1317-65-2-327.
53. Собоко А. И., Краснобаев Е. А. Вирусные диареи свиней. М.: ВНИИТЭИ агропром; 1987. 55 с.
54. Шкабура Ю. П., Ночевный В. Т. Глубинное культивирование вируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней. *Актуальные вопросы ветеринарии. Тезисы докладов 1-й Научно-практической конференции факультета ветеринарной медицины НГАУ*. Новосибирск; 1997. Режим доступа: <https://nsau.edu.ru/images/vetfac/images/ebooks/pages/1997/t661.htm>.
55. Pensaert M. B. Viral gastroenteritis in suckling pigs. *Rev. Sci. Tech.* 1984; 3 (4): 809–818. DOI: 10.20506/rst.3.4.183.
56. Cutlip R. C., Mengeling W. L. Lesions induced by hemagglutinating encephalomyelitis virus strain 67N in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 1972; 33 (10): 2003–2009. PMID: 5074702.
57. Greig A. S., Johnson C. M., Bouillant A. M. Encephalomyelitis of swine caused by a haemagglutinating virus. VI. Morphology of the virus. *Res. Vet. Sci.* 1971; 12 (4): 305–307. DOI: 10.1016/S0034-5288(18)34153-5.
58. Roe C. K., Alexander T. J. A disease of nursing pigs previously unreported in Ontario. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 1958; 22 (9): 305–307. PMID: 17649076.
59. Cartwright S. F., Lucas M. Vomiting and wasting disease in piglets. *Virological and epidemiological studies*. *Vet. Rec.* 1970; 86 (10): 278–280. DOI: 10.1136/vr.86.10.278.
60. Hirano N., Ono K., Takasawa H., Murakami T., Haga S. Replication and plaque formation of swine hemagglutinating encephalomyelitis virus (67N) in swine cell line, SK-K culture. *J. Virol. Methods*. 1990; 27: 91–100. DOI: 10.1016/0166-0934(90)90149-a.
61. Mebus C. A., Stair E. L., Rhodes M. B., Twiehaus M. J. Pathology of neonatal calf diarrhea induced by a coronavirus-like agent. *Vet. Pathol.* 1973; 10 (1): 45–64. DOI: 10.1177/030098587301000105.
62. Mebus C. A. Concepts of viral calf diarrhea. *Norden news*. 1972; 47 (4): 5–7.
63. Stair E. L., Rhodes M. B., White R. G., Mebus C. A. Neonatal calf diarrhea: purification and electron microscopy of a coronavirus-like agent. *Am. J. Vet. Res.* 1972; 33 (6): 1147–1156. PMID: 4553881.
64. Общая характеристика представителей *Coronaviridae*. В кн.: *Инфекционная патология животных. Под ред. А. Я. Самуйленко и др. Т. 1*. М.: Академкнига; 2006; 171–212.
65. Гаффаров Х. З., Иванова А. В., Непоклонов Е. А., Равилов А. З. Моно- и смешанные инфекционные диареи новорожденных телят и поросят. Казань: Фэн; 2002; 64–93.
66. Инфекционные болезни животных: справочник. Под ред. Д. Ф. Осидзе. М.: Агропромиздат; 1987; 287 с.
67. Чистова З. Я., Гуненкова Н. К., Сюрин В. Н. Серологические исследования при диагностике инфекционного бронхита птиц. *Вирусные болезни сельскохозяйственных животных: материалы 1-й Межвузовской ветеринарной вирусологической конференции (26–28 ноября 1970 г.)*. Ч. 2. М.; 1970; 119–121.
68. Schalk A. F., Hawn M. C. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1931; 78: 413–423.
69. Pomeroy B. S., Sieburth J. M. Bleucomb disease of turkeys. *Proc. AVMA*. 1953; 90: 321–327.
70. Peterson E. H., Hymas T. A. Antibiotics in the treatment of an unfamiliar turkey disease. *Poultry Science*. 1951; 30 (3): 466–468. DOI: 10.3382/ps.0300466.
71. Jungherr E., Levine J. M. The pathologic concept of so-called "pullet disease". *Poultry Science*. 1940; 19: 354.
72. Wolfe L. G., Griesemer R. A. Feline infectious peritonitis. *Pathol. Vet.* 1966; 3 (3): 255–270. DOI: 10.1177/030098586600300309.
73. Zook B. C., King N. W., Robison R. L., McCombs H. L. Ultrastructural evidence for the viral etiology of feline infectious peritonitis. *Path. Vet.* 1968; 5 (1): 91–95. DOI: 10.1177/030098586800500112.
74. Ward J. M. Morphogenesis of a virus in cats with experimental feline infectious peritonitis. *Virology*. 1970; 41 (1): 191–194. DOI: 10.1016/0042-6822(70)90070-x.
75. Сюрин В. Н. Частная ветеринарная вирусология. М.: Колос; 1979; 408–425.

REFERENCES

1. Zakstelskaya L. Ya., Sheboldov A. V. Human and animal coronaviruses. Moscow: Meditsina; 1977. 224 p. (in Russ.)
2. Beach J. R., Schalm O. W. A filterable virus, distinct from that of laryngotracheitis, the cause of a respiratory disease of chicks. *Poultry Science*. 1936; 15 (3): 199–206. DOI: 10.3382/ps.0150199.
3. Beaudette F. R., Hudson C. B. Cultivation of the virus of infectious bronchitis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1937; 90: 51–60.
4. Berry D. M., Almeida J. D. The morphological and biological effects of various antisera on avian infectious bronchitis virus. *J. Gen. Virol.* 1968; 3 (1): 97–102. DOI: 10.1099/0022-1317-3-1-97.
5. Gledhill A. W., Andrewes C. H. A hepatitis virus of mice. *Br. J. Exp. Pathol.* 1951; 32 (6): 559–568. PMID: 14895796. PMID: PMC2073177.
6. Hamre D., Procknow J. J. A new virus isolated from the human respiratory tract. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1966; 121 (1): 190–193. DOI: 10.3181/00379727-121-30734.
7. Almeida J. D., Tyrrell D. A. The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture. *J. Gen. Virol.* 1967; 1 (2): 175–178. DOI: 10.1099/0022-1317-1-2-175.
8. Lvov D. K., Alkhovsky S. V., Kolobukhina L. V., Burtseva E. I. Etiology of epidemic outbreaks COVID-19 in Wuhan, Hubei province, Chinese People Republic associated with 2019-nCoV (*Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, Subgenus Sarbecovirus*): lessons of SARS-CoV outbreak. *Problems of Virology (Voprosy virusologii)*. 2020; 65 (1): 6–15. DOI: 10.36233/0507-4088-2020-65-1-6-15. (in Russ.)
9. Gilmudinov R. Ya., Galiullin A. K., Spiridonov G. N. Wild bird coronavirus infections. *Veterinarian*. 2020; 6: 57–67. DOI: 10.33632/1998-698X.2020-6-57-67. (in Russ.)
10. Tyrrell D. A., Bynoe M. L. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *Br. Med. J.* 1965; 1 (5448): 1467–1470. DOI: 10.1136/bmj.1.5448.1467.
11. Holmes K. V. SARS-associated coronavirus. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348 (20): 1948–1951. DOI: 10.1056/NEJMp030078.
12. Bucknall R. A., Kalica A. R., Chanock R. M. Intracellular development and mechanism of hemadsorption of a human coronavirus, OC43. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1972; 139 (3): 811–817. DOI: 10.3181/00379727-139-36243.
13. Hofstad M. S., Adams N., Frey M. L. Studies on a filtrable agent associated with infectious enteritis (bluecomb) of turkeys. *Avian Dis.* 1969; 13 (2): 386–393. PMID: 4978767.
14. Deshmukh D. R., Pomeroy B. S. Physicochemical characterization of a bluecomb coronavirus of turkeys. *Am. J. Vet. Res.* 1974; 35 (12): 1549–1552. PMID: 4433072.
15. Kaye H. S., Hierholzer J. C., Dowdle W. R. Purification and further characterization of an "IBV-like" virus (coronavirus). *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1970; 135 (2): 457–463. DOI: 10.3181/00379727-135-35074.
16. Fritzsche K. O., Stumpel M. E. M., Toucas L. J. M., Billon I. Vergleichende Untersuchungen über die Pathogenität, die Histopathogenese und das Immunisierungsvermögen von zwei attenuierten Virusstämmen der infektiösen Bronchitis der Hühner. *Zbl. Vet. Med., Reihe B*. 1969; 16 (3): 193–212. DOI: 10.1111/j.1439-0450.1969.tb00104.x. (in German)
17. Satylganov T. T. Veterinarno-sanitarnye meropriyatiya pri infektsionnom bronkhite ptits = Animal health measures taken in case of infectious bronchitis. *Veterinariya*. 1971; 2: 36–37. (in Russ.)

18. Becker W. B., McIntosh K., Dees J. H., Chanock R. M. Morphogenesis of avian infectious bronchitis virus and a related human virus (strain 229E). *J. Virol.* 1967; 1 (5): 1019–1027. DOI: 10.1128/JVI.1.5.1019-1027.1967.
19. Syurin V. N., Belousova R. V., Fomina N. V. Diagnosis of animal viral diseases: guide. Moscow: Agropromizdat; 1991. 527 p. (in Russ.)
20. DuBose R. T. Adaptation of the Massachusetts strain of infectious bronchitis virus to turkey embryos. *Avian Dis.* 1967; 11 (1): 28–37. PMID: 6067604.
21. David-Ferreira J. F., Manaker R. A. An electron microscope study of the development of a mouse hepatitis virus in tissue culture cells. *J. Cell. Biol.* 1965; 24 (1): 57–78. DOI: 10.1083/jcb.24.1.57.
22. Mengeling W. L., Boothe A. D., Ritchie A. E. Characteristics of a coronavirus (strain 67N) of pigs. *Am. J. Vet. Res.* 1972; 33 (2): 297–308. PMID: 4551084.
23. Talbot P. J., Salmi A. A., Knobler R. L., Buchmeier M. J. Topographical mapping of epitopes on the glycoproteins of murine hepatitis virus-4 (strain JHM): correlation with biological activities. *Virology.* 1984; 132 (2): 250–260. DOI: 10.1016/0042-6822(84)90032-1.
24. Strauss E. G., Strauss J. H. Replication strategies of the single stranded RNA viruses of eukaryotes. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1983; 105: 1–98. DOI: 10.1007/978-3-642-69159-1_1.
25. Leibowitz J. L., Weiss S. R., Paavola E., Bond C. W. Cell-free translation of murine coronavirus RNA. *J. Virol.* 1982; 43 (3): 905–913. DOI: 10.1128/JVI.43.3.905-913.1982.
26. Siddell S. Coronavirus JHM: coding assignments of subgenomic mRNAs. *J. Gen. Virol.* 1983; 64 (Pt. 1): 113–125. DOI: 10.1099/0022-1317-64-1-113.
27. Sturman L. S., Holmes K. V., Behnke J. Isolation of coronavirus envelope glycoproteins and interaction with the viral nucleocapsid. *J. Virol.* 1980; 33 (1): 449–462. DOI: 10.1128/JVI.33.1.449-462.1980.
28. Caul E. O., Ashley C. R., Ferguson M., Egglestone S. I. Preliminary studies on the isolation of coronavirus 229E nucleocapsids. *FEMS Microbiology Letters.* 1979; 5 (2): 101–105. DOI: 10.1111/j.1574-6968.1979.tb03256.x.
29. Holmes K. V., Doller E. W., Behnke J. N. Analysis of the functions of coronavirus glycoproteins by differential inhibition of synthesis with tunicamycin. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1981; 142: 133–142. DOI: 10.1007/978-1-4757-0456-3_11.
30. Sturman L. S., Holmes K. V. Proteolytic cleavage of peplomeric glycoprotein E2 of MHV yields two 90K subunits and activates cell fusion. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1984; 173: 25–35. DOI: 10.1007/978-1-4615-9373-7_3.
31. Holmes K. V., Frana M. F., Robbins S. G., Sturman L. S. Coronavirus maturation. In: *Molecular biology and Pathogenesis in Coronaviruses*. Eds. P. J. M. Rottier, B. A. M. van der Zeijst, W. J. M. Spaan, M. C. Horzinek. New York and London: Plenum Press; 1984; 37–52.
32. Sturman L. S., Holmes K. V. The molecular biology of coronaviruses. *Adv. Virus. Res.* 1983; 28: 35–112. DOI: 10.1016/s0065-3527(08)60721-6.
33. Sergeev V. A., Gurbanov S. M., Nepoklonov E. A., Kurnosov A. N. Suspension culture of porcine transmissible gastroenteritis virus. *Problems of virology (Voprosy virusologii)*. 1989; 1: 103–106. (in Russ.)
34. Alexander T. J., Richards W. P., Roe C. K. An encephalomyelitis of suckling pigs in Ontario. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 1959; 23 (10): 316–319. PMID: 17649182.
35. Storz J., Rott R., Kaluza G. Enhancement of plaque formation and cell fusion of an enteropathogenic coronavirus by trypsin treatment. *Infect. Immun.* 1981; 31 (3): 1214–1222. DOI: 10.1128/iai.31.3.1214-1222.1981.
36. Yoshikura H., Tejima S. Role of protease in mouse hepatitis virus-induced cell fusion. Studies with a cold-sensitive mutant isolated from a persistent infection. *Virology.* 1981; 113 (2): 503–511. DOI: 10.1016/0042-6822(81)90178-1.
37. Ultrastructure of animal viruses and bacteriophages: an atlas. Eds. A. J. Dalton, F. Haguenuau. New York: Academic Press; 1973. 413 p.
38. Ritchie A. E., Deshmukh D. R., Larsen C. T., Pomeroy B. S. Electron microscopy of coronavirus-like particles characteristic of turkey bluecomb disease. *Avian Dis.* 1973; 17 (3): 546–558. PMID: 4748343.
39. McClurkin A. W., Norman J. O. Studies on transmissible gastroenteritis of swine. II. Selected characteristics of a cytopathogenic virus common to five isolates from transmissible gastroenteritis. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 1966; 30 (7): 190–198. PMID: 4224292.
40. Harada K., Kumagai T., Sasahara J. Studies on transmissible gastroenteritis in pigs. 3. Isolation of cytopathogenic virus and its use for serological investigation. *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Tokyo)*. 1967; 7 (3): 127–137. PMID: 4295384.
41. Garwes D. J. Coronaviruses in animals. In: *Virus Infections of the Gastrointestinal Tract*. Eds. by D. A. J. Tyrell, A. Z. Kapikian. New York: Marcel Dekker Inc.; 1982; 315–359.
42. Pensaert M., Callebaut P., Vergote J. Isolation of a porcine respiratory, non-enteric coronavirus related to transmissible gastroenteritis. *Vet. Q.* 1986; 8 (3): 257–261. DOI: 10.1080/01652176.1986.9694050.
43. Horzinek M. C., Lutz H., Pedersen N. C. Antigenic relationships among homologous structural polypeptides of porcine, feline, and canine coronaviruses. *Infect. Immun.* 1982; 37 (3): 1148–1155. DOI: 10.1128/iai.37.3.1148-1155.1982.
44. Bohl E. H. Transmissible gastroenteritis. In: *Diseases of Swine*. Eds. A. D. Leman, et al. 5th ed. Ames: Iowa State University Press; 1981; 195–208.
45. Garwes D. J., Reynolds D. J. The polypeptide structure of canine coronavirus and its relationship to porcine transmissible gastroenteritis virus. *J. Gen. Virol.* 1981; 52 (Pt. 1): 153–157. DOI: 10.1099/0022-1317-52-1-153.
46. Pensaert M. B., Deboucq P., Reynolds D. J. An immunoelectron microscopic and immunofluorescent study on the antigenic relationship between the coronavirus-like agent, CV 777, and several coronaviruses. *Arch. Virol.* 1981; 68 (1): 45–52. DOI: 10.1007/BF01315166.
47. Sergeev V. A., Nepoklonov E. A., Aliper T. I. Viruses and viral vaccines. Moscow: Biblioteka; 2007. 524 p. (in Russ.)
48. Pensaert M. B., Cox E. Porcine respiratory coronavirus related to transmissible gastroenteritis virus. *Agri-Practice*. 1989; 10 (2): 17–21. Available at: https://www.researchgate.net/publication/297403505_Porcine_Respiratory_Coronavirus_Related_to_Transmissible_Gastroenteritis_Virus.
49. Parker J. C., Cross S. S., Rowe W. P. Rat coronavirus (RCV): a prevalent, naturally occurring pneumotropic virus of rats. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 1970; 31 (3): 293–302. DOI: 10.1007/BF01253764.
50. Hooper B. E., Haelterman E. O. Concepts of pathogenesis and passive immunity in transmissible gastroenteritis of swine. *JAVMA*. 1966; 149: 1580–1586.
51. Dushuk R. V. Porcine transmissible gastroenteritis. Moscow: VNIITEISH; 1981. 55 p. (in Russ.)
52. Laude H., Charley B., Gelfi J. Replication of transmissible gastroenteritis coronavirus (TGEV) in swine alveolar macrophages. *J. Gen. Virol.* 1984; 65 (Pt. 2): 327–332. DOI: 10.1099/0022-1317-65-2-327.
53. Sobko A. I., Krasnobaev E. A. Virus diarrheas of pigs. Moscow: VNIITEI-agroprom; 1987. 55 p. (in Russ.)
54. Shkabura Yu. P., Nochevnyi V. T. Glubinnoe kul'tivirovanie virusa transmissivnogo gastroenterita svinei = Submerged cultivation of porcine transmissible gastroenteritis virus: Topical issues of Veterinary Medicine. *Abstracts of the 1st Research-to-Practice Conference on Veterinary Medicine, NSAU. Novosibirsk*; 1997. Available at: <https://nsau.edu.ru/images/vetfac/images/ebooks/pages/1997/t661.htm>. (in Russ.)
55. Pensaert M. B. Viral gastroenteritis in suckling pigs. *Rev. Sci. Tech.* 1984; 3 (4): 809–818. DOI: 10.20506/rst.3.4.183.
56. Cutlip R. C., Mengeling W. L. Lesions induced by hemagglutinating encephalomyelitis virus strain 67N in pigs. *Am. J. Vet. Res.* 1972; 33 (10): 2003–2009. PMID: 5074702.
57. Greig A. S., Johnson C. M., Bouillant A. M. Encephalomyelitis of swine caused by a haemagglutinating virus. VI. Morphology of the virus. *Res. Vet. Sci.* 1971; 12 (4): 305–307. DOI: 10.1016/S0034-5288(18)34153-5.
58. Roe C. K., Alexander T. J. A disease of nursing pigs previously unreported in Ontario. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 1958; 22 (9): 305–307. PMID: 17649076.
59. Cartwright S. F., Lucas M. Vomiting and wasting disease in piglets. Virological and epidemiological studies. *Vet. Rec.* 1970; 86 (10): 278–280. DOI: 10.1136/vr.86.10.278.
60. Hirano N., Ono K., Takasawa H., Murakami T., Haga S. Replication and plaque formation of swine hemagglutinating encephalomyelitis virus (67N) in swine cell line, SK-K culture. *J. Virol. Methods.* 1990; 27: 91–100. DOI: 10.1016/0166-0934(90)90149-a.
61. Mebus C. A., Stair E. L., Rhodes M. B., Twiehaus M. J. Pathology of neonatal calf diarrhea induced by a coronavirus-like agent. *Vet. Pathol.* 1973; 10 (1): 45–64. DOI: 10.1177/030098587301000105.
62. Mebus C. A. Concepts of viral calf diarrhea. *Norden news*. 1972; 47 (4): 5–7.
63. Stair E. L., Rhodes M. B., White R. G., Mebus C. A. Neonatal calf diarrhea: purification and electron microscopy of a coronavirus-like agent. *Am. J. Vet. Res.* 1972; 33 (6): 1147–1156. PMID: 4553881.
64. General description of *Coronaviridae* members. In: *Animal Infectious Pathology*. Ed. by A. Ya. Samuylenko, et al. Vol. 1. Moscow: Akademkniga; 2006; 171–212. (in Russ.)
65. Gaffarov Kh. Z., Ivanova A. V., Nepoklonov E. A., Ravilov A. Z. Single and mixed infectious diarrheas in newborn calves and piglets. *Kazan: Fen*; 2002; 64–93. (in Russ.)
66. Animal infectious diseases: guide. Ed. by D. F. Osidze. Moscow: Agropromizdat; 1987. 287 p. (in Russ.)
67. Chistova Z. Ja., Gunenkova N. K., Surin V. N. Serologicheskie issledovaniya pri diagnostike infektsionnogo bronkhita ptits = Serology for avian infectious bronchitis diagnosis. *Viral infections of agricultural animals: proceedings of the 1st Interacademic Veterinary Virology Conference (November 26–28, 1970)*. Vol. 2. Moscow; 1970; 119–121. (in Russ.)

68. Schalk A. F., Hawn M. C. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1931; 78: 413–423.

69. Pomeroy B. S., Sieburth J. M. Bleucomb disease of turkeys. *Proc. AVMA.* 1953; 90: 321–327.

70. Peterson E. H., Hymas T. A. Antibiotics in the treatment of an unfamiliar turkey disease. *Poultry Science.* 1951; 30 (3): 466–468. DOI: 10.3382/ps.0300466.

71. Jungherr E., Levine J. M. The pathologic concept of so-called "pullet disease". *Poultry Science.* 1940; 19: 354.

72. Wolfe L. G., Griesemer R. A. Feline infectious peritonitis. *Pathol. Vet.* 1966; 3 (3): 255–270. DOI: 10.1177/030098586600300309.

73. Zook B. C., King N. W., Robison R. L., McCombs H. L. Ultrastructural evidence for the viral etiology of feline infectious peritonitis. *Path. Vet.* 1968; 5 (1): 91–95. DOI: 10.1177/030098586800500112.

74. Ward J. M. Morphogenesis of a virus in cats with experimental feline infectious peritonitis. *Virology.* 1970; 41 (1): 191–194. DOI: 10.1016/0042-6822(70)90070-x.

75. Syurin V. N. Private veterinary virology. Moscow: Kolos; 1979; 408–425. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 13.12.2021

Поступила после рецензирования / Revised 10.02.2022

Принята к публикации / Accepted 02.03.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гаффаров Харис Зарипович, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории вирусных заболеваний животных, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Яруллин Айнура Ильнурович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусных заболеваний животных, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Гумеров Вали Галиевич, доктор ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией вирусных заболеваний животных, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Каримуллина Илсияр Габдельгазизовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории вирусных заболеваний животных, ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Kharis Z. Gaffarov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Viral Diseases of Animals, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia

Ainur I. Yarullin, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Viral Diseases of Animals, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.

Vali G. Gumerov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Head of the Laboratory of Viral Diseases of Animals, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.

Ilsiyar G. Karimullina, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher of the Laboratory of Viral Diseases of Animals, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.



Рецензия на учебное пособие «Оспа овец и оспа коз».

А. В. Кононов, О. П. Бьядовская, К. А. Шалина, А. В. Спрыгин, В. И. Диев.

Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2021. 46 с.: ил. ISBN 978-5-900026-78-7

Т. И. Глотова

Доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологии – диагностический центр ИЭВСидВ СФНЦА РАН, пос. Краснообск, Новосибирская обл., Россия

Для цитирования: Глотова Т. И. Рецензия на учебное пособие «Оспа овец и оспа коз». А. В. Кононов, О. П. Бьядовская, К. А. Шалина, А. В. Спрыгин, В. И. Диев. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2021. 46 с.: ил. ISBN 978-5-900026-78-7. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 186. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-186.

Peer-review of study guide “Sheep pox and goat pox”.

A. V. Kononov, O. P. Byadovskaya, K. A. Shalina, A. V. Sprygin, V. I. Diev.

Vladimir: FGBI “ARRIAH”, 2021. 46 p.: fig. ISBN 978-5-900026-78-7

T. I. Glotova

Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Biotechnologies, Diagnostic Centre, Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia

For citation: Glotova T. I. Peer-review of study guide “Sheep pox and goat pox”. A. V. Kononov, O. P. Byadovskaya, K. A. Shalina, A. V. Sprygin, V. I. Diev. Vladimir: FGBI “ARRIAH”, 2021. 46 p.: fig. ISBN 978-5-900026-78-7. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 186. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-186.

В учебном пособии рассмотрены две особо опасные инфекционные трансграничные болезни – оспа овец и оспа коз. В частности, приведены современные литературные данные и результаты собственных научных исследований эпизоотической ситуации по оспе овец и оспе коз в Российской Федерации и мире. Представлены сведения об этиологической структуре и морфологии возбудителей, источниках инфекции и факторах передачи, особенностях патогенеза с перечислением стадий развития патологического процесса у инфицированных животных, основных клинических признаках заболеваний и патолого-анатомических изменений у овец и коз.

Значительное внимание уделено описанию особенностей диагностики оспы овец и оспы коз, детально рассмотрены методы отбора проб биологического материала для вирусологических, серологических, молекулярно-генетических и гистологических исследований.

Обращено внимание на необходимость проведения дифференциальной диагностики, приведен перечень заболеваний и факторов, которые нужно исключить.

Учебное пособие иллюстрировано большим количеством рисунков, демонстрирующих особенности клинического проявления и патолого-анатомических изменений у инфицированных вирусами оспы коз и оспы овец животных.

Учебное пособие предназначено для обучающихся различного уровня: студентов, аспирантов, слушателей курсов повышения квалификации – как источник современных знаний по таким важным инфекционным заболеваниям, как оспа овец и оспа коз. Кроме того, материал будет полезен для специалистов государственной ветеринарной службы и органов ветеринарного надзора страны.

Авторами проделана очень большая работа по анализу эпизоотической ситуации по оспе овец и оспе коз в различных странах мира и в Российской Федерации, а также существующих мер профилактики и борьбы с ними.

Считаю издание учебного пособия своевременным, уместным и полезным не только для студентов, но и широкого круга ветеринарных специалистов инфекционного профиля.



Рецензия на учебно-методическое пособие «Африканская чума свиней». А. С. Иголкин, К. Н. Груздев. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2021. 126 с.: ил. ISBN 978-5-900026-79-4

О. А. Верховский

Доктор биологических наук, профессор, президент АНО «Научно-исследовательский институт диагностики и профилактики болезней человека и животных», г. Москва, Россия

Для цитирования: Верховский О. А. Рецензия на учебно-методическое пособие «Африканская чума свиней». А. С. Иголкин, К. Н. Груздев. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2021. 126 с.: ил. ISBN 978-5-900026-79-4. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 187. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-187.

Peer-review of study guide “African swine fever”. A. S. Igolkin, K. N. Gruzdev. Vladimir: FGBI “ARRIAH”, 2021. 126 p.: fig. ISBN 978-5-900026-79-4

O. A. Verkhovsky

Doctor of Science (Biology), Professor, President, Independent Non-Profit Organization “Diagnostic and Prevention Research Institute for Human and Animal Diseases”, Moscow, Russia

For citation: Verkhovsky O. A. Peer-review of study guide “African swine fever”. A. S. Igolkin, K. N. Gruzdev. Vladimir: FGBI “ARRIAH”, 2021. 126 p.: fig. ISBN 978-5-900026-79-4. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 187. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-187.

Африканская чума свиней (АЧС) – болезнь диких и домашних свиней, возбудителем которой является ДНК-содержащий вирус семейства *Asfarviridae* рода *Asfivirus*, штаммы и изоляты которого характеризуются значительным генетическим и иммунологическим разнообразием, обуславливающим различия их биологических свойств. С момента заноса на территорию нашей страны (2007 г.) вируса АЧС II генотипа 8 серотипа данная проблема является самой серьезной для отечественного свиноводства, нанося значительный экономический ущерб отрасли в целом и представляя большую угрозу продовольственной безопасности нашей страны. В последние годы трансгранично распространившись в западном и восточном направлениях, вирус АЧС существенно расширил ареал своего обитания, а сама болезнь приносит многомиллиардные убытки во многих странах мира. Возможная одновременная циркуляция в природе штаммов вируса с различной степенью вирулентности предопределяет совершенствование алгоритма диагностических и превентивных мероприятий при подозрении на АЧС, при этом отсутствие средств специфической профилактики и лечения, недостаточная изученность проблемы осложняют борьбу с данной инфекцией. В настоящее время согласно утвержденным «Ветеринарным правилам осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов африканской чумы свиней» в животноводческом комплексе или в личном подсобном хозяйстве, где зафиксирована вспышка АЧС, вводится карантин, все поголовье свиней подлежит уничтожению.

В последние годы ветеринарная наука и практика накопила достаточно большой опыт по предотвращению распространения и ликвидации очагов АЧС, однако он разрознен и требует обобщения. Такой подход осуществлен авторами рецензируемого учебно-методического пособия «Африканская чума свиней» А. С. Иголкиным и К. Н. Груздевым, ведущими специалистами по АЧС.

Рецензируемая работа состоит из 11 разделов и изложена на 126 страницах. В доступной форме освещены вопросы эпизоотологии АЧС в России и других странах мира, этиологии болезни, особенностей генетической организации вируса АЧС, его культивирования, принципы дифференциации изолятов, устойчивости к действию различных химических и физических факторов и др. Рассмотрены источники и пути передачи инфекции. Описаны современные методы лабораторной диагностики, патогенез, клинические и патолого-анатомические признаки болезни, а также профилактики АЧС и меры борьбы. Большое внимание уделено первичной дифференциальной диагностике АЧС, что особенно важно практикующим ветеринарным специалистам.

Материалы, представленные в учебном пособии, отражают многолетний опыт работы авторов и коллективов различных НИУ. Они будут полезны ветеринарным специалистам различного уровня для использования в своей практической работе. Работа легко читается, иллюстрирована авторскими информативными качественными рисунками и таблицами. Учитывая высокий уровень представленного материала, учебно-методическое пособие следует рекомендовать для использования в учебных процессах, а также как информационный материал.



Рецензия на учебно-методическое пособие «Африканская чума свиней». А. С. Иголкин, К. Н. Груздев. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2021. 126 с.: ил. ISBN 978-5-900026-79-4

А. Н. Чернов

Доктор биологических наук, заведующий отделом животноводства и ветеринарии, главный научный сотрудник Татарского НИИАХП – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, Россия

Для цитирования: Чернов А. Н. Рецензия на учебно-методическое пособие «Африканская чума свиней». А. С. Иголкин, К. Н. Груздев. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2021. 126 с.: ил. ISBN 978-5-900026-79-4. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 188. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-188.

Peer-review of study guide “African swine fever”. A. S. Igolkin, K. N. Gruzdev. Vladimir: FGBI “ARRIAH”, 2021. 126 p.: fig. ISBN 978-5-900026-79-4

A. N. Chernov

Doctor of Science (Biology), Head of the Livestock and Veterinary Department, Chief Researcher, Tatar Scientific Research Institute of Agrochemistry and Soil Science, the FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

For citation: Chernov A. N. Peer-review of study guide “African swine fever”. A. S. Igolkin, K. N. Gruzdev. Vladimir: FGBI “ARRIAH”, 2021. 126 p.: fig. ISBN 978-5-900026-79-4. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 188. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-188.

Африканская чума свиней (АЧС) – контагиозная септическая болезнь домашних свиней и диких кабанов. Она представляет огромную угрозу для отрасли свиноводства любой из стран, где занимаются разведением данных животных. Возбудителем АЧС является ДНК-содержащий вирус рода *Asfivirus* семейства *Asfarviridae*. Мировой опыт борьбы с АЧС показал, что отсутствие средств профилактики и лечения сильно осложняет предотвращение распространения и ликвидацию очагов болезни.

Как показывает практика, для осуществления выполнения правил профилактических, диагностических, ограничительных мероприятий, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов африканской чумы свиней, требуются подготовленные, обученные люди.

Настоящее учебно-методическое пособие «Африканская чума свиней» подготовлено ведущими специалистами научного учреждения ФГБУ «ВНИИЗЖ» А. С. Иголкиным, К. Н. Груздевым, имеющими практический опыт борьбы с АЧС. Материалы, представленные в рецензируемой работе, отражают многолетний опыт изучения этиологии инфекции, особенности генетической организации вируса АЧС, принципы дифференциации изолятов, репродукции, устойчивости вируса к действию различных химических и физических факторов, отражены современные методы лабораторной диагностики, а также профилактики АЧС и меры борьбы с заболеванием.

Авторами представлен мировой опыт, накопленный по рассматриваемым вопросам.

В пособии изложена теоретическая и практическая информация, необходимая руководящему звену ветеринарной службы страны, а также непосредственным исполнителям, осуществляющим профилактические, диагностические и ограничительные мероприятия, направленные на предотвращение распространения и ликвидацию очагов АЧС.

Выбранная форма учебно-методического пособия позволяет расширить и закрепить знания по изложенной проблеме. Применение раздела вопросов для самоконтроля дает возможность адекватно оценивать уровень усвоенных знаний слушателей при проведении семинаров, вебинаров, курсов, в том числе проводимых дистанционно.

Использование данного учебно-методического пособия в учебном процессе будет способствовать дальнейшему повышению профессиональной квалификации специалистов практической ветеринарии.

Следует отметить хорошую иллюстрированность пособия, грамотное изложение материала и качественный подбор литературы, на которую ссылаются авторы.

Подготовленное учебно-методическое пособие можно рекомендовать при проведении курсов, семинаров, вебинаров для повышения квалификации специалистов ветеринарного и биологического профиля, а также его можно использовать в качестве источника информации работникам муниципальных учреждений, служб лесного хозяйства, МЧС, населению об этой социально значимой болезни свиней.

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>

**«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

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» издано учебно-методическое пособие



Иголкин А. С., Груздев К. Н. Африканская чума свиней:
учебно-методическое пособие. – Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»,
2021. – 126 с.: ил.
ISBN 978-5-900026-79-4

Целью учебно-методического пособия является представление ветеринарным специалистам, руководителям свиноводческих хозяйств, фермерам, охотникам, работникам лесного хозяйства, муниципальным и государственным служащим сведений об африканской чуме свиней (АЧС): истории, этиологии, характеристике возбудителя, патогенезе, клинической и патолого-анатомической картине, мерах борьбы с болезнью. Пособие включает общую информацию о мировом ареале распространения АЧС, путях передачи, лабораторных методах обнаружения вируса/антигена/генома или специфических антител, необходимых для своевременной качественной диагностики, дифференциальной диагностики, а также методах реагирования, направленных на предотвращение и ликвидацию заболевания. Включены рекомендации по действию специалистов и руководителей различных уровней в условиях вспышки АЧС.

Учебно-методическое пособие предназначено для повышения квалификации специалистов ветеринарного и биологического профиля, материалы могут быть использованы в качестве источника информации для населения об этой социально значимой болезни свиней.

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») объявляет о приеме в аспирантуру в 2022 году по двум направлениям подготовки:

36.06.01 Ветеринария и зоотехния
(группа научных специальностей
4.2. Зоотехния и ветеринария),
специальность **06.02.02 Ветеринарная
микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология
с микотоксикологией и иммунология
(4.2.3 Инфекционные болезни
и иммунология животных)** – 9 мест;

06.06.01 Биологические науки
(группа научных специальностей
1.5. Биологические науки),
специальность **03.02.02 Вирусология
(1.5.10 Вирусология)** – 3 места.

**Прием документов для поступления
в аспирантуру проводится с 1 июня по 31 августа
2022 года**

Поступающие в аспирантуру сдают конкурсные вступительные экзамены в соответствии с государственными образовательными стандартами высшего профессионального образования по специальной дисциплине, философии, иностранному языку.

НЕОБХОДИМЫЕ ДОКУМЕНТЫ:

- заявление на имя директора ФГБУ «ВНИИЗЖ»;
- документ (документы), удостоверяющий личность и гражданство поступающего;
- оригинал диплома специалиста или диплома магистра;
- список опубликованных научных работ, изобретений и отчетов по научно-исследовательской работе, подписанный в установленном порядке. Лица, не имеющие опубликованных научных работ и изобретений, предоставляют реферат по избранному направлению подготовки;
- документ, свидетельствующий об индивидуальных достижениях поступающего (дипломы победителя или лауреата конкурсов, фестивалей, выставок и т. д.);
- медицинская справка (форма № 086/у);
- фото (4 × 6 см) – 2 шт.

Адрес приемной комиссии:

600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец,
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья
животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»).

Телефоны для справок:

(4922) 52-99-62; 26-15-12 (доб. 22-27, 20-20, 21-11)

Официальный сайт ФГБУ «ВНИИЗЖ»: www.arriah.ru