



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

СЕНТЯБРЬ | SEPTEMBER ТОМ 11 № 3 2022

SCIENTIFIC JOURNAL

ЭПИЗООТОЛОГИЯ

**Классическая чума свиней: ретроспективный анализ
эпизоотической ситуации в Российской Федерации (2007–2021 гг.)
и прогноз на 2022 г.**

стр. 229



**Оценка эпизоотической
ситуации по инвазионным
заболеваниям в оленеводческих
хозяйствах Мурманской области**

стр. 210

**Актуализированная
эпизоотическая ситуация
по туберкулезу крупного рогатого
скота в Республике Дагестан**

стр. 222

**Африканская чума
свиней на территории
Республики Крым
в 2015–2018 гг.**

стр. 239

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

СЕНТЯБРЬ ТОМ 11 № 3 2022

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

QUARTERLY SCIENTIFIC JOURNAL

SEPTEMBER VOLUME 11 No. 3 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; Scopus Author ID: 6506731135 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

Оформление обложки: Бондарь Мария

Редакционная коллегия:

Болдбаатар Базарцэрэн — PhD в области ветеринарии, Институт ветеринарной медицины, г. Улан-Батор, Монголия; Scopus Author ID: 2663473300

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; ResearcherID: K-9491-2015

Глотов 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; Scopus Author ID: 7004340265

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

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; Scopus Author ID: 56114346900; ResearcherID: V-4640-2017

Забережный Алексей Дмитриевич — д-р биол. наук, профессор, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», г. Щелково, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7635-2596>; AuthorID: 91643; Scopus Author ID: 6507196549; ResearcherID: V-7959-2017

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

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

Кононов Александр Владимирович — канд. вет. наук, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>

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

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. Вышелесского», г. Минск, Беларусь; <https://orcid.org/0000-0002-9611-8286>; Scopus Author ID: 55996656700; ResearcherID: AAE-5001-2019

Макаров Владимир Владимирович — д-р биол. наук, профессор, ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-8464-6380>; Scopus Author ID: 7401689971

Махамат 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; ResearcherID: Z-2189-2019

Мищенко Владимир Александрович — д-р вет. наук, профессор, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3751-2168>; Scopus Author ID: 7103128956

Мищенко Наталья Владимировна — д-р биол. наук, доцент, ФГБОУ ВО «Владимирский государственный университет им. А. Г. и Н. Г. Столетовых», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3643-3129>; AuthorID: 66095; Scopus Author ID: 7004534956

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

Недосеков Виталий Владимирович — д-р вет. наук, профессор, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев, Украина; <https://orcid.org/0000-0001-7581-7478>; Scopus Author ID: 57189580555

Никитин Иван Николаевич — д-р вет. наук, ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана», г. Казань, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3981-0882>; ResearcherID: F-5330-2019

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

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

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

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

Русалев 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; Scopus Author ID: 6506749368; ResearcherID: D-3777-2014

Самарджия Марко — PhD в области ветеринарии, профессор, Загребский университет, факультет ветеринарной медицины, г. Загреб, Хорватия; <https://orcid.org/0000-0003-0402-3173>; Scopus Author ID: 8410731800

Сидорчук Александр Андреевич — д-р вет. наук, профессор, г. Москва, Россия; AuthorID: 508887

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

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

Старов Сергей Константинович — канд. вет. наук, старший научный сотрудник, заместитель главного редактора, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; AuthorID: 596191

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

Сулейманов Сулейман Мухитдинович — д-р вет. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. императора Петра I», г. Воронеж, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0461-9885>

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

Чвала Илья Александрович — канд. вет. наук, ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>; Scopus Author ID: 57204228517

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

Шкуратова Ирина Алексеевна — д-р вет. наук, профессор, член-корреспондент РАН, Уральский НИВИ — структурное подразделение ФГБНУ УрФАНЦИ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>; AuthorID: 482688

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

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

Научный журнал «Ветеринария сегодня» включен в информационно-аналитическую систему РИНЦ, каталог журналов открытого доступа DOAJ, а также в список журналов, входящих в базу данных RSCI на платформе Web of Science, и международную базу данных EBSCO. Электронные версии журнала размещаются в полнотекстовом формате на сайте Научной электронной библиотеки (НЭБ) eLIBRARY.RU, в каталоге DOAJ и по адресу <http://veterinary.arriah.ru/jour/index>.

Тираж 1150 экземпляров.
Цена свободная
Подписку на научный журнал «Ветеринария сегодня» можно оформить через Агентство по подписке ООО «УРАЛ-Пресс 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: ООО «Вейнард», 129626, г. Москва, проспект Мира, д. 102, стр. 31, комн. 12
Адрес редакции: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Типография: ООО «ГРАН ПРИ», 152900, Ярославская область, г. Рыбинск, ул. Луговая, 7
Подписано в печать: 16 сентября 2022 года
Дата выхода в свет: 4 октября 2022 года

Creative Commons
Attribution 4.0 License



16+

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 Nikeskina, Candidate of Science (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: nikeskina@arriah.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0959-5915>; Tel.: +7 (4922) 26-15-12, ext. 22-27

Cover design: Maria Bondar

Editorial Board:

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

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. Vyshelesky, 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. Plyuschikov – 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, 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 Frolovtseva, Julia Nurmukhambetova-Mikhailova

Proof-reader: Irina Zvereva

The Journal "Veterinary Science Today" is registered in the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology, and Mass Media Federal Service, Registration Certificate No F5 77-49033, March 21, 2012.

Scientific Journal "Veterinary Science Today" is included in the information analysis system – Russian Science Citation Index, Directory of Open Access Journals DOAJ, as well as in the Web of Science RSCI database and in the international database of EBSCO. Full-text e-versions of the Journal are published on the website of the Scientific Electronic Library, eLIBRARY.RU, DOAJ, and <http://veterinary.arriah.ru/jour/index>.

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: September 16, 2022
Issued: October 04, 2022

Creative Commons
Attribution 4.0 License



16+

Содержание

ОБЗОРЫ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

194 Оспа обезьян и другие ортопоксвирусные зоонозы
К. Н. Груздев

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ КРС

203 Респираторные заболевания молодняка крупного рогатого скота
Т. С. Ермилова, М. А. Самбунова, О. В. Кашарная, Э. А. О. Салимзаде

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ЭПИЗООТОЛОГИЯ

210 Оценка эпизоотической ситуации по инвазионным заболеваниям в оленеводческих хозяйствах Мурманской области
Э. В. Фирсова, Р. А. Почепко

216 Конъюнктура заболеваемости лейкозом крупного рогатого скота на территории Республики Дагестан за 2021 год
А. Р. Мустафаев

222 Актуализированная эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Дагестан
М. О. Баратов, П. С. Гусейнова

229 Классическая чума свиней: ретроспективный анализ эпизоотической ситуации в Российской Федерации (2007–2021 гг.) и прогноз на 2022 г.
А. С. Оганесян, А. А. Шевцов, А. В. Щербаков, Ф. И. Коренной, А. К. Караулов

239 Африканская чума свиней на территории Республики Крым в 2015–2018 гг.
Н. Г. Кошарный, С. И. Данильченко, М. А. Пасуныкина, Д. В. Гадзевич, Н. Г. Воротилова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

248 Комплекс мероприятий по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота
А. Р. Ягудин, С. А. Счисленко, И. А. Усова, И. Я. Строганова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БИОТЕХНОЛОГИЯ

254 Определение критериев для исследования флокулирующих свойств полисепта (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида)
М. Н. Гусева, М. И. Доронин, М. А. Шевченко, Д. В. Михалишин, Ы. М. Гочмурадов, В. В. Михалишин, Ю. С. Елькина

262 Оптимизация состава питательной среды и изучение стадий роста изолята «Калуга 2020» *Mycoplasma bovis*
Мохаммад Абед Алхуссен, А. А. Нестеров, А. В. Спрыгин, И. Н. Шумилова, М. С. Брянцева, О. П. Бьядовская

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

268 Опыт длительного хранения референтного штамма С-141 возбудителя мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*)
Е. А. Артемьева, Л. А. Мельникова, А. П. Родионов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

273 Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов, специфичных к *Bordetella bronchiseptica*
Т. А. Кочетова, В. В. Юскевич, Г. Т. Садикова, В. М. Попова

280 Электропорация эмбриональных стволовых клеток мыши с помощью прибора Neon
И. П. Савченкова, А. А. Савченкова

Contents

REVIEWS | GENERAL ISSUES

- 194** Monkeypox and other orthopoxvirus zoonoses
K. N. Gruzdev

REVIEWS | BOVINE DISEASES

- 203** Respiratory diseases in young cattle
T. S. Ermilova, M. A. Samburova, O. V. Kasharnaya, E. A. O. Salimzade

ORIGINAL ARTICLES | EPIZOOTOLOGY

- 210** Assessment of the epizootic situation by invasive diseases in reindeer farms in the Murmansk Oblast
E. V. Firsova, R. A. Pochevko
- 216** Bovine leukosis incidence in Republic of Dagestan in 2021
A. R. Mustafayev
- 222** Actual bovine tuberculosis situation in the Republic of Dagestan
M. O. Baratov, P. S. Huseynova
- 229** Classical swine fever: a retrospective analysis of the epizootic situation in the Russian Federation (2007–2021) and forecast for 2022
A. S. Oganessian, A. A. Shevtsov, A. V. Shcherbakov, F. I. Korennoy, A. K. Karaulov
- 239** African swine fever in the Republic of Crimea in 2015–2018
N. G. Kosharny, S. I. Danylchenko, M. A. Pasunkina, D. V. Gadzevich, N. G. Vorotilova

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 248** Bovine leukosis control measures
A. R. Yagudin, S. A. Schislenko, I. A. Usova, I. Ya. Stroganova

ORIGINAL ARTICLES | BIOTECHNOLOGY

- 254** Determination of indicators for tests of polysept (polyhexamethylene guanidine hydrochloride) for flocculation properties
M. N. Guseva, M. I. Doronin, M. A. Shevchenko, D. V. Mikhlishin, Y. M. Gochmuradov, V. V. Mikhlishin, Yu. S. El'kina
- 262** Optimization of medium composition and study of growth stages of *Mycoplasma bovis* "Kaluga 2020" isolate
Mohammad Abed Alhussen, A. A. Nesterov, A. V. Sprygin, I. N. Shumilova, M. S. Bryantseva, O. P. Byadovskaya

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 268** Long-term storage of C-141 reference strain of melioidosis agent (*Burkholderia pseudomallei*)
E. A. Artemeva, L. A. Melnikova, A. P. Rodionov

ORIGINAL ARTICLES | GENERAL ISSUES

- 273** Isolation and study of biological properties of *Bordetella bronchiseptica*-specific bacteriophages
T. A. Kochetova, V. V. Yuskevich, G. T. Sadykova, V. M. Popova
- 280** Electroporation of mouse embryonic stem cells with Neon device
I. P. Savchenkova, A. A. Savchenkova



Оспа обезьян и другие ортопоксвирусные зоонозы

К. Н. Груздев

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

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

РЕЗЮМЕ

В представленной работе освещено текущее состояние знаний, касающихся биологии инфекции, эпидемиологии и эволюции вируса оспы обезьян (MPXV), оспы коров (CPXV), оспы буйволов (BPXV), оспы верблюдов (CMLPV), а также некоторые факторы, которые модулируют динамику передачи ортопоксвируса, проявление ортопоксвирусных инфекций и их сохранение в природе. Несмотря на ликвидацию исторически печально известной натуральной оспы, ортопоксвирусы остаются серьезной проблемой ветеринарии и здравоохранения. Их роль в настоящее время возрастает на фоне увеличения количества людей, которые не имеют иммунитета против натуральной оспы. Наряду с этим наблюдается генетическая трансформация возбудителей, что становится причиной роста рисков поражения человека ортопоксвирусами зоонозной природы. Наибольший интерес представляет проблема оспы обезьян, оспы коров, оспы буйволов и оспы верблюдов, возбудители которых входят в род зоонозных ортопоксвирусов. На фоне учащения проявления случаев заболевания человека оспой обезьян в 2020–2022 гг. ретроспективный анализ последних 20 лет показывает, что активность очагов оспы обезьян в XXI в. возросла в государствах Центральной Африки. Также активизировались очаги оспы коров в Европе, оспы верблюдов в Юго-Западной и Центральной Азии. В 2011 г. в Индии вирус оспы верблюдов преодолел межвидовой барьер и вызвал клиническую оспоподобную форму заболевания у человека. Подобные факты тревожат ученых, так как геном вируса оспы верблюдов на 99% гомологичен геному вируса натуральной оспы. Это требует усиления эпизоотологического и эпидемиологического мониторинга за возбудителями ортопоксвирусных зоонозов.

Ключевые слова: обзор, оспа обезьян, оспа коров, оспа буйволов, оспа верблюдов, ортопоксвирусы, зоонозы

Для цитирования: Груздев К. Н. Оспа обезьян и другие ортопоксвирусные зоонозы. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 194–202. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-194-202.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Груздев Константин Николаевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьево, e-mail: gruzdev@arriah.ru.

Monkeypox and other orthopoxvirus zoonoses

K. N. Gruzdev

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

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

SUMMARY

The paper highlights the current knowledge on infection biology, epidemiology and evolution of monkeypox virus (MPXV), cowpox virus (CPXV), buffalopox virus (BPXV), camelpox virus (CMLPV), as well as addresses some factors that modulate dynamics of orthopoxvirus transmission, manifestation of orthopoxvirus infections and their preservation in nature. Despite the elimination of the historically infamous smallpox, orthopoxviruses remain a serious veterinary and health problem. Their role is currently increasing while the number of persons not immune to smallpox grows. Along with this, there is a genetic transformation of pathogens. In this regard, the risks of human infection with orthopoxviruses of zoonotic nature are increasing. The problem of monkeypox, cowpox, buffalopox and camelpox and the respective agents included in the genus of zoonotic orthopoxviruses presents the greatest interest. Along with the increased number of human monkeypox cases in 2020–2022, a retrospective analysis of the last 20 years shows that the activity of monkeypox outbreaks in the XXI century intensified in Central African countries. Cowpox outbreaks in Europe and camelpox outbreaks in Southwestern and Central Asia have also become more active. In 2011, in India, the camelpox virus overcame the interspecies barrier and caused a clinical pox-like disease in humans. Scientists are alarmed by these facts as the camelpox virus genome is 99% homologous to the genome of the smallpox virus. This requires strengthening the epizootological and epidemiological monitoring of orthopoxvirus zoonotic pathogens.

Keywords: review, monkeypox, cowpox, buffalopox, camelpox, orthopoxviruses, zoonoses

For citation: Gruzdev K. N. Monkeypox and other orthopoxvirus zoonoses. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 194–202. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-194-202.

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

For correspondence: Konstantin N. Gruzdev, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: gruzdev@arriah.ru.

ВЕДЕНИЕ

Почему поксвирусы занимают высокое место в рейтинге потенциальных вирусных угроз будущего? Это семейство включает в себя множество возбудителей, которые поражают как позвоночных, включая людей, так и беспозвоночных представителей царства животных. Несмотря на ликвидацию печально известной натуральной оспы, поксвирусы из рода *Orthopoxvirus* остаются большой проблемой для ветеринарии и здравоохранения, вызывая серьезные зоонозные заболевания. В представленном обзоре кратко излагаются общая характеристика ортопоксвирусов, современные и будущие угрозы, создаваемые ими для людей, домашних и диких животных. Углубленные исследования представителей этого рода являются продуктивными для расширения фундаментальных биологических знаний и понимания методических подходов к профилактике и борьбе с другими инфекционными заболеваниями зоонозной природы [1].

В настоящее время в мире увеличивается количество людей, не имеющих иммунитета против натуральной оспы на фоне генетической трансформации возбудителей зоонозов ортопоксвирусной природы. Это повышает риск поражения человека. Еще одним фактором риска является способность поксвирусов преодолевать видовой барьер, как это произошло с вирусом оспы обезьян [2–7]. Ретроспективный анализ последних 20 лет показывает, что активность очагов оспы обезьян в XXI в. возросла в странах Африки [8, 9]. Также активизировались очаги оспы коров в Европе [2, 6, 7], оспы буйволов [4, 10–12, 15] и оспы верблюдов в Юго-Западной и Центральной Азии [13, 14]. В 2011 г. в Индии вирус оспы верблюдов преодолел межвидовой барьер, вызвав клиническую оспоподобную форму заболевания у человека [16–19]. Эти факты тревожат ученых [20–22], т. к. геном вируса оспы верблюдов на 99% гомологичен геному вируса натуральной оспы [23]. Выявлены многочисленные мутации в отдельных генах, в том числе в гене C18L, отвечающем за видовой ген хозяина [24].

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОРТОПОКСВИРУСОВ

Семейство *Poxviridae* состоит из подсемейств вирусов позвоночных *Chordopoxvirinae* и вирусов насекомых *Entomopoxvirinae*. Подсемейство *Chordopoxvirinae* представлено крупными ДНК-содержащими вирусами, имеющими кирпичеобразную или овоидную форму. Они объединены в роды, представители которых поражают млекопитающих, за исключением *Avipoxvirus* (вирусы оспы птиц) и *Crocodylipoxvirus* (вирус оспы крокодилов). Выделен род *Parapoxvirus*, представители которого имеют уникальную спиральную оболочку, отличающую их от других поксвирусов (возбудители

болезни Орф, папулезного стоматита крупного рогатого скота и оспы тюленей). Возбудители контагиозного моллюска и ликвидированной в настоящее время натуральной оспы являются единственными поксвирусами, основным хозяином и резервуаром которых является человек [25].

Наиболее известным является род *Orthopoxvirus*, куда входят вирусы осповакцины, оспы обезьян, оспы коров, оспы буйволов, оспы верблюдов и некоторые другие ортопоксвирусы [25–28].

Согласно IX таксономии вирусов (2012 г.), род ортопоксвирусов включал 11 видов возбудителей (табл.).

Род ортопоксвирусов постоянно пополняется. В XXI в. новые представители ортопоксвирусов обнаружены в Северной Америке – вирус скунсов (*Skunkpox virus*, SKPV), в Африке – вирус болезни Uasin Gishu (*Uasin Gishu disease virus*, UGDV), позаимствовавший название у кенийской провинции. В 2010, 2015 и 2017 гг. в Грузии (Ахметском и Ванском районах), США (на Аляске) и Италии выявлено еще три новых представителя рода ортопоксвируса: *Akhmeta virus*, *Alaskapox virus*, оспы кошек соответственно [29–32]. Не исключается появление мутированных ортопоксвирусов животных, сходных с вирусом натуральной оспы [33].

В 2018 г. зарубежными исследователями была создана синтетическая копия вируса оспы лошадей, результаты работы опубликованы в журнале *PLoS One* [34].

К настоящему времени расшифрованы полноразмерные нуклеотидные последовательности генома представителей ортопоксвирусов – они размещены в международной базе данных GenBank. Следует отметить, что первыми полногеномное секвенирование вируса натуральной оспы, выделенного в Индии в 1967 г., провели ученые ГНЦ ВБ «Вектор» [35–40]. Бабкин И. В. определил нуклеотидную последовательность генов гемагглютинаина и белка слияния для различных штаммов рода *Orthopoxvirus*. Для разработки молекулярных методов диагностики и дифференциации ортопоксвирусов им было предложено использовать последовательность гена A27L, кодирующего консервативный вирионный белок [26].

Разделение поксвирусов на современные роды от первоначального вируса началось примерно 500 тыс. лет назад. Родоначальник *Orthopoxvirus* мог появиться около 300 тыс. лет назад. Постепенно внутри рода начали появляться различные виды (рис. 1) [23, 24]. Расчеты показали, что эволюционно близкие к вирусу натуральной оспы виды – вирус оспы верблюдов и татерапоксвирус – отделились от единого предка (по-видимому, вируса грызунов) около $(3,4 \pm 0,8)$ тыс. лет назад. В процессе эволюции род *Orthopoxvirus* разделился на две основные ветви. При этом генетическая картина эволюции весьма разнообразна и значительно различается для отдельных ортопоксвирусов [23, 24, 33, 41, 42].

Таблица
Классификация ортопоксвирусов [29]

Table
Classification of orthopoxviruses [29]

Представители рода ортопоксвирусов согласно таксономии вирусов			
1991 г.			
<i>Variola virus</i> (VARV) – вирус натуральной оспы; <i>Monkeypox virus</i> (MPXV) – вирус оспы обезьян; <i>Cowpox virus</i> (CPXV) – вирус коровьей оспы; <i>Camelpox virus</i> (CMLPV) – вирус оспы верблюдов; <i>Ectromelia virus</i> (ECTV) – вирус экстремелии; <i>Vaccinia virus</i> (VACV) – вирус осповакцины (подвиды: <i>Buffalopox virus</i> – вирус оспы буйволов, <i>Rabbitpox virus</i> – вирус оспы кроликов); <i>Raccoonpox virus</i> (RCN) – вирус оспы енотов; <i>Taterapox virus</i> (TATV) – вирус оспы африканских гололапых песчанок (татер)			
1995 г.			
<i>Volepox virus</i> (VPXV) – вирус оспы полевок			
2000 г.			
<i>Uasin Gishu disease virus</i> (UGDV) – вирус болезни Уасингишу (по названию кенийской провинции), поражает лошадей*			
2010 г.			
<i>Skunkpoxvirus</i> (SKPXV) – вирус оспы скунсов			
Итого 8 видов	Итого 9 видов	Итого 10 видов	Итого 11 видов

* не признан отдельным видом (not recognized as a separate species).



Рис. 1. Эволюция поксвирусов (адаптировано по [33])

Fig. 1. Evolution of poxviruses (based on [33])

Ортопоксвирусы размножаются в цитоплазме клеток, репликация в клетках зараженных животных проходит ряд стадий, детально описанных и практически неотличимых для разных представителей рода [43–45].

Данные вирусы чувствительны к различным дезинфицирующим средствам, включая растворы 1%-го гипохлорита натрия, 1%-го гидроксида натрия, 1%-й надуксусной кислоты, формальдегида, 0,5–1,0%-го формалина и 0,5%-х четвертичных аммониевых соединений. Разрушаются автоклавированием или кипячением в течение 10 мин, а также ультрафиолетовыми лучами [39, 46].

Считается, что возбудители оспы обезьян, оспы коров, оспы буйволов и оспы верблюдов генетически схожи, могут заражать человека и обеспечивать ему перекрестный иммунитет [26–28].

ОСПА ОБЕЗЬЯН

Некоторые инфекционные болезни, встречающиеся у обезьян, представляют опасность для человека и других животных [47–51].

Оспа обезьян – зоонозное заболевание, вызываемое вирусом оспы обезьян, MPXV (рис. 2), геном которого представлен двухцепочечной ДНК, относящимся к семейству *Poxviridae*, роду *Orthopoxvirus* [48].

Это заболевание является эндемичным для некоторых стран Центральной и Западной Африки. Установлена циркуляция вируса среди диких животных, регистрируются случаи оспы обезьян у людей в Африке и странах вне Африканского континента [52–53].

Естественный резервуар MPXV и механизм передачи окончательно не установлены. Заражение происходит аэрогенным (воздушно-капельным) путем, орально, через повреждения кожи. Источником инфекции являются больные приматы 12 видов, инфицированный вирусом человек, грызуны [52]. Болезнь протекает с синдромом интоксикации, сопровождается возникновением на коже и слизистых оболочках везикулярно-пустулезной сыпи [48]. К сожалению, собранные данные по данному заболеванию у обезьян ограничены и разрозненны.

Возбудитель был впервые выделен в 1958 г. в Институте сывороток в Копенгагене от яванской макаки с пустулезными высыпаниями на коже, вследствие чего был назван вирусом оспы обезьян [54, 55].

Вирус контагиозен, вызывает заболевание практически у всех видов обезьян, может инфицировать и других животных, например сусликов (*Spermophilus tridecemlineatus*), чернохвостых луговых собак (*Cynomys ludovicianus*), африканских сони (*Graphiurus kelleni*), мышей, обыкновенных (степных) сурков (*Marmota bobak*). В Африке MPXV обнаружен у многих видов животных, таких как полосатые белки, древесные белки, гамбийские крысы, полосатые мыши. Возбудитель иммунологически перекрестно реагирует с другими ортопоксвирусами, однако имеет специфические антигены, которые выявляются с помощью моноклональных антител. Клиническая картина оспы у обезьян разных видов неодинакова. Наиболее тяжело болезнь протекает у орангутанов. У зеленых мартышек развивается заболевание средней тяжести, у макак-резусов и павианов гамадрилов, а также у шимпанзе отмечается лишь легкая форма инфекции. У животных, зараженных экспериментально парентеральным способом, инкубационный период колебался от 3 до 8 дней [54].

В естественных условиях инкубационный период составляет 10 сут. Заболевание начинается остро: повышается температура, развивается кашель, вялость, снижается аппетит. К концу первой недели нередко появляется генерализованная лимфаденопатия, сохраняющаяся до 3 недель. С 3-х по 14-е сут на коже и слизистых оболочках обнаруживаются папулезные высыпания, подвергающиеся изъязвлению с распространением на губы, веки, слизистые оболочки рта и глотки. Позже папула превращается в пустулу. Образовавшиеся затем корочки отпадают на 21-е сут с воз-

никновением рубчиков. Смертность колеблется от 3 до 40% (у орангутанов) [27, 50, 55].

Лабораторная диагностика основывается на молекулярно-биологических (полимеразная цепная реакция), иммунохимических (разные модификации иммуноферментного анализа), вирусологических (выделение вируса в культуре клеток, на хориоаллантоисной оболочке эмбрионов кур, а также на лабораторных животных) и серологических методах исследования. Целесообразна противооспенная вакцинация персонала, работающего с обезьянами, особенно поступающими в период карантина [48, 50, 55].

Вирус оспы обезьян не является эволюционным предшественником вируса натуральной оспы, но также считается опасным для человека [48, 56]. В конце XX в. проявление оспы обезьян у человека было редким явлением, но в двадцатых годах XXI в. частота и географическое распространение случаев заражения людей возросло [57, 58]. Впервые оспа обезьян диагностирована в 2001 г. в США у путешественника из Нигерии [59], а в 2003 г. выявили еще несколько случаев. Установлено, что источником заражения была луговая собачка [60].

В сентябре 2017 г. среди жителей штата Байельса (Нигерия) произошла крупная вспышка оспы обезьян [61]. При обследовании 21 заболевшего человека регистрировали следующие клинические признаки: кожная сыпь – 100% случаев, повышение температуры тела – 80,1%, зуд – 66,7%, недомогание – 61,9%, лимфаденопатия – 61,9%, озноб и потливость – 61,9%, головная боль – 57,1%, язвы во рту – 52,4%, язвы на гениталиях – 41,6%, поражения горла – 42,8%, миалгия – 23,8%, боль – 23,8%, кашель – 19,0%, конъюнктивит – 19,0%, тошнота и рвота – 14,3%, чувствительность к свету – 14,3%, гепатомегалия – 9,5%, обезвоживание – 9,5%, отек вульвы – 9,5%, плохой аппетит – 9,5%, язвы на языке – 9,5%, язвы на мошонке – 9,5%, диарея – 4,8%. Данная вспышка и последовавший за ней вынос туристами заболевания за пределы Нигерии в 2018–2020 гг. вызвали серьезную обеспокоенность ученых, предположивших, что MPXV может занять экологическую и иммунологическую нишу, освобожденную вирусом натуральной оспы [61, 62].

Клиническая картина, вызываемая MPXV у человека, похожа на таковую при натуральной оспе, но эпидемиологически они различаются [56]. Вакцинация против натуральной оспы защищает людей от оспы обезьян. Регистрировали передачу вируса от человека к человеку [52].

Поражения кожи у человека, больного оспой обезьян, показаны на рисунках 3, 4.

По данным Всемирной организации здравоохранения, к середине 2022 г. число людей, инфицированных возбудителем оспы обезьян, превысило 3,4 тыс. человек в 50 странах мира. Более 86% всех зараженных являлись жителями европейских стран [63].

Изучение биологических свойств MPXV проводили с использованием нечеловекообразных приматов, луговых собачек, африканских белок, сусликов и иммунодефицитных мышей [64]. При титровании вируса на луговых собачках было показано, что изоляты MPXV бассейна Конго при интраназальном заражении являются более вирулентными, чем западноафриканские [65]. Согласно исследованиям А. А. Сергеева и соавт. [64, 66], наиболее чувствительными к вирусу оспы обезьян являются сурки, в то время как интраназаль-

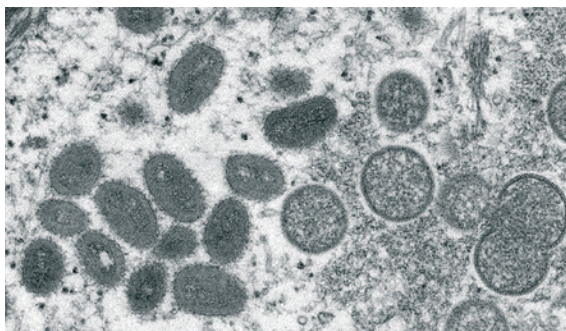


Рис. 2. Вирус оспы обезьян

Fig. 2. Monkeypox virus

(https://nashpoz.ru/wp-content/uploads/2022/05/2022-05-19T105043Z_1152629469_RC2T9U9TZXD0_RTRMADP_3_HEALTH-MONKEYPOX-PORTUGAL-SPAIN.JPG.jpg)

ное заражение кроликов и мини-свиней суспензией штамма Congo Basin MPXV V79-1-005 не вызвало никаких визуальных проявлений заболевания. Результаты проделанной работы позволили предложить степных сурков в качестве модельных животных для изучения свойств данного вируса.

Таким образом, возбудителем оспы обезьян является MPXV. Заболевание по клиническим проявлениям



Рис. 3. Пузырчато-пустулезные поражения на ногах больного оспой обезьян [61]

Fig. 3. Vesicular-pustular lesions on feet of monkeypox affected patient [61]



Рис. 4. Ребенок, инфицированный вирусом оспы обезьян

Fig. 4. Child with monkeypox virus infection

сходно с натуральной оспой. Лабораторная диагностика является основным методом выявления вируса. Необходим современный эпизоотологический мониторинг обезьян и других восприимчивых животных в связи с тем, что оспа обезьян признана наиболее важной ортопоксвирусной инфекцией у людей в эпоху после ликвидации натуральной оспы [54, 66, 67].

ОСПА КОРОВ

До 70-х гг. XX в. считалось, что вирус оспы коров (CPXV) вызывает вспышки заболевания только в популяции крупного рогатого скота, клиническая картина у которого чаще проявляется в форме местной (поражения на коже вымени и на сосках), реже генерализованной инфекции (более характерно для телят). В дальнейшем выяснили, что к вирусу восприимчив гораздо более широкий круг животных, кроме того, CPXV является патогенным для человека и может вызывать генерализованную инфекцию у людей с ослабленным иммунитетом [21, 22, 24, 44, 68].

Возбудитель оспы коров – ДНК-содержащий поксвирус со сложной симметрией, относится к семейству *Poxviridae*, роду *Orthopoxvirus*, виду *Cowpox virus* (клайды Brighton Red – CPXV-BR, GRI-90-CPXV-GRI) [68].

Вирус хорошо размножается на хориоаллантоисной оболочке куриных эмбрионов, образовывая бляшки, и ряде клеточных культур (Vero, MRC-5, RK13 и др.), вызывая цитопатический эффект [69].

Репликация CPXV в клетках кожи зараженных животных проходит ряд стадий, детально описанных и практически неотличимых от других ортопоксвирусов [70–73].

Клиническая картина оспы коров у разных животных довольно схожа, независимо от инфицированного вида, и в основном приводит к поражению кожи. Вирус является эпителиотропным, заболевание часто начинается с появления везикулярных поражений, позже развивающихся в пустулу с вдавленным центром.

У людей поражения CPXV обычно остаются локализованными и самоограничиваются, но могут привести к летальному исходу у пациентов с иммуносупрессией [74, 75].

Изучение экологии вируса оспы коров выявило распространение этого возбудителя среди лабораторных и диких грызунов в природных биоценозах [70, 76–79]. Высокие титры антител, обнаруженные у кошачьих (сем. *Felidae*) и некоторых других плотоядных животных,

указывают на высокий уровень их заражения данным вирусом. Были зарегистрированы вспышки, вызванные CPXV, среди львов, леопардов, гепардов, снежного барса, кустарниковой собаки, полосатых мангустов (*Mungos mungo*) и ягуарунди (*Herpailurus yagouaroundi*), а также слонов, носорогов, верблюдов в зоопарках и цирках [80–83]. Смертность среди экзотических животных и кошачьих высока, хотя точные данные на этот счет отсутствуют. Зоопарковые экзотические животные могут заражаться, если содержатся в непосредственной близости от других животных, которые вступают в контакт с дикими грызунами [75].

Многочисленные данные о выявлении CPXV и антител к нему у представителей диких грызунов позволили Д. К. Львову [68] сделать предположение о ведущей роли этих животных в качестве основного резервуара оспы коров. Дикие крысы могут быть либо первичным резервуаром, либо усиливающим хозяином [75, 79, 84].

Вирус оспы коров устойчив во внешней среде. Он хорошо сохраняется при пониженных температурах, в высушенных стручках, глицерине. При кипячении вируссодержащего материала инактивируется в течение нескольких минут. Относительно устойчив к действию дезсредств [85].

Источником возбудителя являются больные животные и вирусоносители. Вирус оспы коров проникает в организм аэрогенным или алиментарным путем при контакте больных животных со здоровыми через поврежденные кожные покровы и слизистую (вымя, соски, мошонку, голову, шею, бедра).

Детально клиническая картина заболевания описана у крупного рогатого скота (рис. 5). Наиболее частым проявлением заболевания является оспенный мастит, при котором уменьшаются молокообразование и молокоотделение [85].

При неосложненном течении больные выздоравливают через 3–4 нед., а при наличии осложнений болезнь затягивается на 1,5–2,0 мес. Взрослый крупный рогатый скот переносит оспу коров преимущественно в легкой форме. У телят развивается бронхопневмония и гастроэнтерит.

Вирус проникает в кровь, лимфатические узлы и внутренние органы. Период вирусемии сопровождается повышением температуры тела, угнетением. После переболевания оспой у коров формируется пожизненный иммунитет [85].

Сообщения о заболевании человека коровьей оспой появились в XVIII в. Она считалась профессиональным заболеванием доярок. Обычно болезнь у человека протекает доброкачественно, однако возможны осложнения у невакцинированных людей и лиц с ослабленным иммунитетом. В редких случаях наблюдают развитие генерализованной инфекции или смерть [40]. Потенциально опасными являются природные малоизученные и неизученные изоляты CPXV [66, 70, 87]. В будущем частота инфицирования людей может возрасти [75].

В 2008 г. заражение четырех человек вирусом оспы коров зарегистрировали в г. Крефельд (Германия). Был выделен вирус CPXV HumKre08/1. Источником заболевания явились приобретенные в зоомагазине домашние крысы, инфицированные CPXV. Все они погибли. В том же году диагностирован еще один случай заражения – вирус оспы коров выделили у сотрудника частного зоопарка рептилий в г. Ландау (рис. 6), он получил название CPXV HumLan 08/1.



Рис. 5. Пораженные соски [86]

Fig. 5. Affected udder nipples [86]

Последовательность генов гемагглютинаина обоих штаммов вируса оказалась разной. На рисунке 7 представлены эволюционные взаимоотношения изолятов ортопоксвируса, выделенных во время вспышек в Германии, и эталонных штаммов ортопоксвируса [75].

Вирус оспы коров сыграл определенную роль в специфической профилактике натуральной оспы у человека. В 1796 г. Э. Дженнер разработал способ вакцинации против данной болезни, заключающийся во введении человеку CPXV [88].

В настоящее время CPXV следует рассматривать как вирус грызунов – зооноз, характеризующийся природной очаговостью. Заражение людей возможно при контакте не только с больными коровами, но и с любым инфицированным животным. Риск возникновения вспышек коровьей оспы высок. Требуется эпизоотологический и эпидемиологический мониторинг [68, 75, 79, 84].

ОСПА БУЙВОЛОВ

Оспа буйволов – контагиозное вирусное заболевание, поражающее буйволов (*Bubalus bubalis*), реже коров. Информация об этой инфекции систематизирована в обзоре С. В. Борисевича и соавт. [15]. Болезнь является зоонозом. Люди, в основном ухаживающий персонал и доильщики, заражаются от инфицированных животных.

Возбудитель – вирус осповакцины.

Во время вспышек заболевают от 5 до 80% буйволов. Инкубационный период составляет от 2 до 4 сут. Клинические проявления заболевания включают оспенные поражения на вымени, сосках, веках, в паховой области, на коже головы. Тяжелые формы сопровождаются генерализованной сыпью. После 10 сут болезни повреждения заживают и остается струп. Встречаются осложнения: отек и выпуклость глаза, изъязвление роговицы, выделения из уха. Выздоровление наступает в течение 1–2 мес. Передача вируса от животного к животному происходит через доярок, однако пока нет подтверждения заражения человека от человека [89–91]. Болезнь не вызывает высокой летальности среди животных, но влияет на снижение продуктивности, надоев молока и торговые ограничения. Вспышки регистрируются в странах, где буйволов разводят как молочный скот [89, 90].

Для диагностики и дифференциации вируса оспы буйволов разработаны методы вирусыведения, современные тест-системы индикации возбудителя, включающие полимеразную цепную реакцию на основе гена, специфичного для вируса оспы буйволов (C18L), и определения уровня специфических антител [92].

Инкубационный период у человека, зараженного вирусом оспы буйволов, составляет 3–19 сут. Поражения возникают на пальцах или предплечьях и, как правило, сопровождаются легкой лихорадкой, которая начинается на 1–4-е сут и продолжается 4–5 сут. Выздоровление наступает в течение 2 нед. [90]. Есть предположение, что вирус оспы буйволов приобрел патогенность для животных и человека вследствие адаптивной эволюции [15, 89, 93].

Возможность межвидовой передачи VACV, включая коров, буйволов и людей, подразумевает потенциальное повторное появление вируса и возникновение новых вспышек. Необходим эпизоотологический и эпидемиологический мониторинг [92, 94].



Рис. 6. Поражение пациента вирусом оспы коров, вызванное штаммом CPXV HumLan08 [75]

Fig. 6. Patient affected by cowpox virus strain CPXV HumLan08 [75]

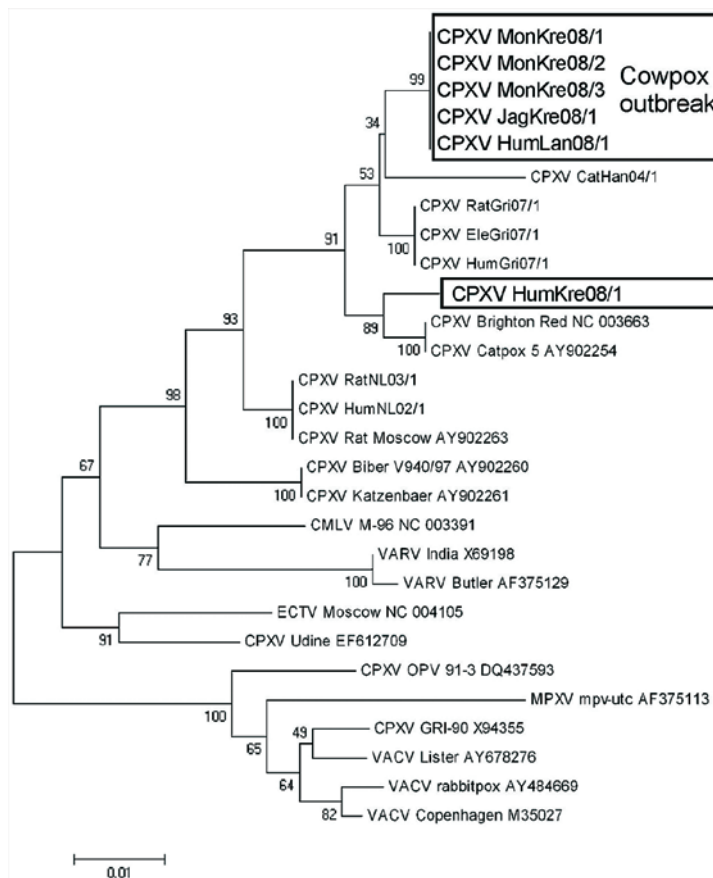


Рис. 7. Эволюционные взаимоотношения выделенных изолятов и эталонных штаммов ортопоксвируса [75]

Fig. 7. Evolutionary relationships of orthopoxvirus recovered isolates and reference strains [75]

ОСПА ВЕРБЛЮДОВ

Оспа верблюдов – зоонозная контагиозная болезнь, протекающая с образованием характерной узелково-пустuleзной оспенной сыпи на коже и слизистых оболочках. Вирус оспы верблюдов (CMLPV) относится к семейству *Poxviridae*, роду *Orthopoxvirus* [95].

Болезнь регистрируют почти на всех континентах, где разводят верблюдов, за исключением Австралии

(куда в XIX–XX вв. был интродуцирован верблюд дромадер) и Южной Америки (где сельскохозяйственными животными являются ламы и родственные им виды) [95–97]. Серологические исследования выявили высокую распространенность антител к CMLPV [98].

Анализ нуклеотидных последовательностей показал, что CMLPV наиболее близок к вирусу натуральной оспы. Хорошие результаты показала вакцинация верблюдов штаммами вируса осповакцины.

Вирус оспы верблюдов размножается в клеточных культурах (Vero, MA-104, MS, ВНК, кожи верблюда) и в первичных культурах клеток (тестикул ягненка, почки ягненка, эмбриональной почки верблюда, почки теленка, фибробластов куриных эмбрионов) [99, 100], гемоглинирует эритроциты петуха [99], устойчив при pH от 5 до 8,5.

Инкубационный период составляет 9–15 сут. Клинические проявления оспы верблюдов варьируют от легких оспенных поражений, локализованных на коже, до умеренных и тяжелых при генерализованной инфекции. Возможно, это зависит от штамма CMLPV или иммунного статуса животных [98]. Поражения на коже появляются через 1–3 сут после начала лихорадки: эритематозные пятна, папулы и везикулы, а затем пустулы, которые превращаются в корочки, локализуясь на веках, ноздрах и краях ушей. Могут распространиться на шею, конечности, гениталии, молочные железы и промежность. Увеличиваются лимфоузлы. При генерализованной форме заболевания поражения оспой обнаруживаются на слизистых оболочках рта и дыхательных путей, иногда отмечают слепоту [98, 101–103].

Выздоровление наступает спустя 4–6 нед. Беременные самки могут абортить. Смерть обычно связывают со вторичными инфекциями и септициемией [30, 96, 98].

Передача возбудителя происходит при контакте с инфицированными животными через контаминированную окружающую среду. Заражение – аэрогенно или через ссадины на коже. Вирус выделяется с молоком, слюной, истечениями из глаз и носа. Высохшие струпья, образовавшиеся при поражении оспой, могут содержать живой вирус в течение не менее 4 мес. и загрязнять окружающую среду [97].

Иммунитет против верблюжьей оспы является как гуморальным, так и клеточно-опосредованным. Считается, что циркулирующие антитела не отражают иммунный статус животного [98]. После естественного заражения приобретает пожизненный иммунитет. Живая аттенуированная вакцина обеспечивает защиту от заболевания на 6 лет [104].

Вирус оспы верблюдов видоспецифичен и не заражает других животных, в том числе крупный рогатый скот, овец и коз [18, 102].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На фоне увеличения количества случаев заболевания человека оспой обезьян в 2020–2022 гг. требуются меры по усилению эпизоотологического и эпидемиологического мониторинга за возбудителями ортопоксвирусных зоонозов.

Вспышки ортопоксвирусных инфекций делают актуальными разработку надежных и видоспецифичных экспресс-методов детекции их возбудителей, расширение панели образцов ДНК ортопоксвирусов с включе-

нием вируса оспы кур, вируса миксомы кроликов, вируса ветряной оспы, вируса простого герпеса I и II типа.

Перспективными научными разработками в области изучения ортопоксвирусов следует считать эпизоотологические, эпидемиологические вопросы, молекулярно-биологические механизмы репликации и взаимодействия вируса с хозяином.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Yang Z., Gray M., Winter L. Why do poxviruses still matter? *Cell Biosci.* 2021; 11:96. DOI: 10.1186/s13578-021-00610-8.
- Abrahão J. S., Guedes M. I., Trindade G. S., Fonseca F. G., Campos R. K., Mota B. F., et al. One more piece in the VACV ecological puzzle: could peridomestic rodents be the link between wildlife and bovine vaccinia outbreaks in Brazil? *PLoS One.* 2009; 4 (10):e7428. DOI: 10.1371/journal.pone.0007428.
- Campe H., Zimmermann P., Glos K., Bayer M., Bergemann H., Dreweck C., et al. Cowpox virus transmission from pet rats to humans, Germany. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15 (5): 777–780. DOI: 10.3201/eid1505.090159.
- Gurav Y. K., Raut C. G., Yadav P. D., Tandale B. V., Sivaram A., Pore M. D., et al. Buffalopox outbreak in humans and animals in Western Maharashtra, India. *Prev. Vet. Med.* 2011; 100 (3–4): 242–247. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2011.03.008.
- Kinnunen P. M., Henttonen H., Hoffmann B., Kallio E. R., Korthase C., Laakkonen J., et al. Orthopox virus infections in Eurasian wild rodents. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011; 11 (8): 1133–1140. DOI: 10.1089/vbz.2010.0170.
- Ninove L., Domart Y., Vervel C., Voinot C., Salez N., Raoult D., et al. Cowpox virus transmission from pet rats to humans, France. *Emerg. Infect. Dis.* 2009; 15 (5): 781–784. DOI: 10.3201/eid1505.090235.
- Nitsche A., Kurth A., Pauli G. Viremia in human Cowpox virus infection. *J. Clin. Virol.* 2007; 40 (2): 160–162. DOI: 10.1016/j.jcv.2007.07.014.
- Besombes C., Gonfio E., Konamna X., Selekon B., Grant R., Gessain A., et al. Intrafamily transmission of monkeypox virus, Central African Republic, 2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25 (8): 1602–1604. DOI: 10.3201/eid2508.190112.
- Yinka-Ogunleye A., Aruna O., Dalhat M., Ogoina D., McCollum A., Disu Y., et al. Outbreak of human monkeypox in Nigeria in 2017–18: a clinical and epidemiological report. *Lancet Infect. Dis.* 2019; 19 (8): 872–879. DOI: 10.1016/S1473-3099(19)30294-4.
- Gujarati R., Reddy Karumuri S. R., Babu T. N., Janardhan B. A case report of buffalopox: A zoonosis of concern. *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* 2019; 85 (3): 348. DOI: 10.4103/ijdv.IJDVL_222_17.
- Marinai C. B., Venkatesha M. D., Gomes A. R., Reddy P., Nandini P., Byregowda S. M. Isolation and molecular characterization of zoonotic Buffalopox virus from skin lesions of humans in India. *Int. J. Dermatol.* 2018; 57 (5): 590–592. DOI: 10.1111/ijd.13890.
- Riyesh T., Karuppusamy S., Bera B. C., Barua S., Virmani N., Yadav S., et al. Laboratory-acquired buffalopox virus infection, India. *Emerg. Infect. Dis.* 2014; 20 (2): 324–326. DOI: 10.3201/eid2002.130358.
- Dahiya S. S., Kumar S., Mehta S. C., Narnaware S. D., Singh R., Tuteja F. C. Camelpox: A brief review on its epidemiology, current status and challenges. *Acta Trop.* 2016; 158: 32–38. DOI: 10.1016/j.actatropica.2016.02.014.
- Erster O., Melamed S., Paran N., Weiss S., Khinich Y., Gelman B., et al. First diagnosed case of camelpox virus in Israel. *Viruses.* 2018; 10 (2): 78. DOI: 10.3390/v10020078.
- Борисевич С. В., Маренникова С. С., Стомба Л. Ф., Петров А. А., Кротков В. Т., Махлай А. А. Оспа буйволов. *Вопросы вирусологии.* 2016; 61 (5): 200–204. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-5-200-204.
- Borisevich S. V., Marennikova S. S., Stovba L. F., Petrov A. A., Krotkov V. T., Makhlai A. A. Buffalopox. *Problems of Virology.* 2016; 61 (5): 200–204. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-5-200-204. (in Russ.)
- Balamurugan V., Venkatesan G., Bhanuprakash V., Singh R. K. Camelpox, an emerging orthopox viral disease. *Indian J. Virol.* 2013; 24 (3): 295–305. DOI: 10.1007/s13337-013-0145-0.
- Bera B. C., Barua S., Shanmugasundaram K., Anand T., Riyesh T., Vaid R. K., et al. Genetic characterization and phylogenetic analysis of host-range genes of camelpox virus isolates from India. *Virus Disease.* 2015; 26 (3): 151–162. DOI: 10.1007/s13337-015-0266-8.
- Bera B. C., Shanmugasundaram K., Barua S., Venkatesan G., Virmani N., Riyesh T., et al. Zoonotic cases of camelpox infection in India. *Vet. Microbiol.* 2011; 152 (1–2): 29–38. DOI: 10.1016/j.vetmic.2011.04.010.
- Khalafalla A. I., Abdelazim F. Human and dromedary camel infection with camelpox virus in Eastern Sudan. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2017; 17 (4): 281–284. DOI: 10.1089/vbz.2016.2070.
- Гаврилова Е. В., Максютков Р. А., Щелкунов С. Н. Ортопоксвирусные инфекции: эпидемиология, клиника, диагностика (обзор). *Проблемы особо опасных инфекций.* 2013; (4): 82–88. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-82-88.
- Gavrilova E. V., Maksyutov R. A., Shchelkunov S. N. Orthopoxvirus infections: epidemiology, clinical picture, and diagnostics (scientific review). *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2013; (4): 82–88. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-82-88. (in Russ.)
- Shchelkunov S. N. An increasing danger of zoonotic orthopoxvirus infections. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (12): e1003756. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003756.
- Shchelkunova G. A., Shchelkunov S. N. 40 years without Smallpox. *Acta Naturae.* 2017; 9 (4): 4–12. PMID: 29340212; PMCID: PMC5762823.
- Бабкин И. В., Щелкунов С. Н. Молекулярная эволюция поксвирусов. *Генетика.* 2008; 44 (8): 1029–1044. eLIBRARY ID: 11031782.
- Babkin I. V., Shchelkunov S. N. Molecular evolution of poxviruses. *Russian Journal of Genetics.* 2008; 44 (8): 1029–1044. eLIBRARY ID: 11031782. (in Russ.)
- Babkin I. V., Babkina I. N. A retrospective study of the orthopoxvirus molecular evolution. *Infect. Genet. Evol.* 2012; 12 (8): 1597–1604. DOI: 10.1016/j.mee-gid.2012.07.011.

25. James W., Elston D., Treat J., Rosenbach M., Neuhaus I., Wu Q. Andrews' Diseases of the Skin: Clinical Dermatology. 13th ed. Elsevier, Inc.; 2019. 1008 p.
26. Бабкин И. В. Изучение молекулярной эволюции ортопоксвирусов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Кольцово; 2008. 17 с.
27. Babkin I. V. Izuchenie molekulyarnoi evolyutsii ortopoksvirusov = Study of orthopoxvirus molecular evolution: author's thesis ... Candidate of Science (Biology). Koltsovo; 2008. 17 p. (in Russ.)
28. Львов Д. К. Натуральная оспа. В кн.: *Руководство по вирусологии: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д. К. Львова. М.: Мед. информ. агентство; 2013; 665–668.*
29. Lvov D. K. Smallpox. In: *Virology Manual: Viruses and viral infections in humans and animals. Ed. by D. K. Lvov. Moscow: Medical Informational Agency Publishers; 2013; 665–668.* (in Russ.)
30. Хлусевич Я. А. Группоспецифические вируснейтрализующие рекомбинантные антитела против иммунодоминантного белка р35 ортопоксвирусов: получение и характеристика: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск; 2019. 21 с.
31. Khlusevich Ya. A. Grupospecificcheskie virusneitralizuyushchie rekombinantnye antitela protiv immunodominantnogo belka p35 ortopoksvirusov: polucheniye i kharakterizatsiya = Group-specific virus-neutralizing recombinant antibodies against immunodominant protein p35 of orthopoxviruses: production and characterization: author's thesis ... Candidate of Science (Biology). Novosibirsk; 2019. 21 p. (in Russ.)
32. 29. *Poxviridae. In: ICTV 9th Report. 2012.* Режим доступа: https://ictv.global/report_9th/dsDNA/poxviridae.
33. Vora N. M., Li Y., Geleishvili M., Emerson G. L., Khmaladze E., Maghlakelidze G., et al. Human infection with a zoonotic orthopoxvirus in the country of Georgia. *N. Engl. J. Med.* 2015; 372 (13): 1223–1230. DOI: 10.1056/NEJMoa1407647.
34. Springer Y. P., Hsu C. H., Werle Z. R., Olson L. E., Cooper M. P., Castrodale L. J., et al. Novel Orthopoxvirus infection in an Alaska resident. *Clin. Infect. Dis.* 2017; 64 (12): 1737–1741. DOI: 10.1093/cid/cix219.
35. Lanave G., Dowgier G., Decaro N., Albanese F., Brogi E., Parisi A., et al. Novel Orthopoxvirus and lethal disease in cat, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24 (9): 1665–1673. DOI: 10.3201/eid2409.171283.
36. Онищенко Г. Г., Кириллов И. А., Махлай А. А., Борисевич С. В. Ортопоксвирусы: прошлое, настоящее и будущее. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2020; 75 (4): 300–305. DOI: 10.15690/vramn1363.
37. Onishchenko G. G., Kirillov I. A., Makhlay A. A., Borisevich S. V. Orthopoxviruses: past, present and future. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2020; 75 (4): 300–305. DOI: 10.15690/vramn1363. (in Russ.)
38. Noyce R. S., Lederman S., Evans D. H. Construction of an infectious horsepox virus vaccine from chemically synthesized DNA fragments. *PLoS One.* 2018; 13(1):e0188453. DOI: 10.1371/journal.pone.0188453.
39. Mohamed M. R., Rahman M. M., Lanchbury J. S., Shattuck D., Neff C., Dufford M., et al. Proteomic screening of variola virus reveals a unique NF-kappaB inhibitor that is highly conserved among pathogenic orthopoxviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009; 106 (22): 9045–9050. DOI: 10.1073/pnas.0900452106.
40. WHO. The Independent Advisory Group on Public Health Implications of Synthetic Biology Technology Related to Smallpox, June 2015: Meeting report. Режим доступа: <https://www.who.int/publications/i/item/the-independent-advisory-group-on-public-health-implications-of-synthetic-biology-technology-related-to-smallpox>.
41. Щелкунов С. Н., Блинов В. М., Тотменин А. В., Маренникова С. С., Колыхалов А. А., Фролов И. В. и др. Изучение структурно-функциональной организации генома вируса натуральной оспы. I. Клонирование HindIII- и XhoI-фрагментов вирусной ДНК и секвенирование HindIII-M, -L, -I-фрагментов. *Молекулярная биология.* 1992; 26 (5): 1099–1115.
42. Shchelkunov S. N., Blinov V. M., Totmenin A. V., Marennikova S. S., Kolykhalov A. A., Frolov I. V., et al. Study of the structural-functional organization of the natural variola virus genome. I. Cloning HindIII- and XhoI-fragments of viral DNA and sequencing HindIII-M, -L, -I fragments. *Molecular Biology.* 1992; 26 (5): 1099–1115. (in Russ.)
43. Щелкунов С. Н., Маренникова С. С., Блинов В. М., Ресенчук С. М., Тотменин А. В., Чижиков В. Е. и др. Полная кодирующая последовательность генома вируса натуральной оспы. *Доклады Академии наук.* 1993; 328 (5): 629–632.
44. Shchelkunov S. N., Marennikova S. S., Blinov V. M., Resenchuk S. M., Totmenin A. V., Chizhikov V. E., et al. Polnaya kodiruyushhaya posledovatel'nost' genoma virusa natural'noj ospy = Complete coding sequence of smallpox virus genome. *Doklady RAN.* 1993; 328 (5): 629–632. (in Russ.)
45. Coetzer J. A. W. *Poxviridae. In: Infectious Diseases of Livestock. Eds. J. A. W. Coetzer, R. C. Tustin. 2nd ed. Vol. 2. Cape Town: Oxford University Press; 2004; 1265–1267.*
46. Shchelkunov S. N., Resenchuk S. M., Totmenin A. V., Blinov V. M., Marennikova S. S., Sandakhchiev L. S. Comparison of the genetic maps of variola and vaccinia viruses. *FEBS Lett.* 1993; 327 (3): 321–324. DOI: 10.1016/0014-5793(93)81013-p.
47. Бабкин И. В., Непомнящих Т. С., Максютов Р. А., Гуторов В. В., Бабкина И. Н., Щелкунов С. Н. Сравнительный анализ вариабельных регионов генома натуральной оспы. *Молекулярная биология.* 2008; 42 (4): 612–624. eLIBRARY ID: 11031976.
48. Babkin I. V., Nepomnyashchikh T. S., Maksyutov R. A., Gutorov V. V., Babkina I. N., Shchelkunov S. N. Comparative analysis of variable regions in the genomes of variola virus strains. *Molecular Biology.* 2008; 42 (4): 612–624. eLIBRARY ID: 11031976. (in Russ.)
49. Бабакина И. Н., Бабкин И. В., Ли Ю., Ропп С., Кляйн Р., Дэмон И. и др. Филогенетическое сравнение геномов различных штаммов вируса натуральной оспы. *Доклады Академии наук.* 2004; 398 (6): 818–822. eLIBRARY ID: 17371847.
50. Babkina I. N., Babkin I. V., Li U., Ropp S., Kline R., Damon I., et al. Phylogenetic comparison of the genomes of different strains of variola virus. *Doklady Biochemistry and Biophysics.* 2004; 398 (6): 818–822. eLIBRARY ID: 17371847. (in Russ.)
51. Максютов Р. А. Живые противоспешные вакцины. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2017; (2): 72–77. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-72-77.
52. Maksyutov R. A. Live antivariolic vaccines. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2017; (2): 72–77. DOI: 10.21055/0370-1069-2017-2-72-77. (in Russ.)
53. Маренникова С. С., Щелкунов С. Н. Патогенные для человека ортопоксвирусы. М.: Товарищество научных изданий КМК; 1998. 386 с.
54. Marennikova S. S., Shchelkunov S. N. Human pathogenic orthopoxviruses. Moscow: KMK Scientific Press Ltd.; 1998. 386 p. (in Russ.)
55. Пичугина Т. Возвращение смертоносного вируса. Ученые оценили риск новой пандемии. *РИА Новости.* Режим доступа: <https://ria.ru/20210804/ospa-1744160177.html>.
56. Pichugina T. Vozvrashcheniye smertonosnogo virusa. Uchenye otsenili risk novoi pandemii = Deadly virus' comeback. Scientists estimated new pandemic risk. *RIA Novosti.* Available at: <https://ria.ru/20210804/ospa-1744160177.html>. (in Russ.)
57. Колосова И. В. Мутанты вируса оспы коров с делециями генов BFK-семейства: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Кольцово; 2011. 35 с.
58. Kolosova I. V. Mutanty virusa ospy korov s deletsiyami genov BFK-semeistva = Cowpox viral BFK-gene deletion mutants: author's thesis ... Candidate of Science (Biology). Koltsovo; 2011. 35 p. (in Russ.)
59. Акимов Д. Ю., Макарова М. Н., Акимова М. А., Бондарева Е. Д., Хан С. О. Риск-ориентированный подход к проведению мониторинга здоровья обезьян. *Лабораторные животные для научных исследований.* 2021; 2: 68–82. DOI: 10.29296/2618723X-2021-02-09.
60. Akimov D. Yu., Makarova M. N., Akimova M. A., Bondareva E. D., Khan S. O. Risk-based approach to the health monitoring of primates. *Laboratory Animals for Science.* 2021; 2: 69–82. DOI: 10.29296/2618723X-2021-02-0. (in Russ.)
61. Борздова И. Ю. Натуральная оспа. Режим доступа: https://snipchi.ru/updoc/2020/%D0%94%D0%BE%D0%BF%20%D0%BE%D0%B1%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5/4_8_B.pdf (дата обращения: 22.06.2022).
62. Borzdova I. Yu. Smallpox. Available at: https://snipchi.ru/updoc/2020/%D0%94%D0%BE%D0%BF%20%D0%BE%D0%B1%D1%80%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5/4_8_B.pdf (date of access: 22.06.2022). (in Russ.)
63. Лапин Б. А., Джикидзе Э. К., Крылова Р. И., Стасилевич З. К., Яковлева Л. А. Проблемы инфекционной патологии обезьян. М.: РАМН; 2004. 136 с.
64. Lapin B. A., Dzikhidze E. K., Krylova R. I., Stasilevich Z. K., Yakovleva L. A. Problems of Infectious Pathology of Monkeys. Moscow: RAMN; 2004. 136 p. (in Russ.)
65. 50. Болезни обезьян, опасные для человека. Правила содержания и работы с обезьянами в карантине при поступлении животных из внешних источников, а также при экспериментальном инфицировании: методические рекомендации МР 1.3.0012/1-13. Режим доступа: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293772/4293772403.pdf>.
66. Simian diseases dangerous for humans. Rules for keeping and handling monkeys in quarantine upon receipt of animals from external sources, as well as during experimental infection: methodical guidelines MG 1.3.0012/1-13. Available at: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293772/4293772403.pdf>. (in Russ.)
67. Лапин Б. А., Яковлева Л. А. Очерки сравнительной патологии обезьян. М.: Медгиз; 1960. 303 с.
68. Lapin B. A., Yakovleva L. A. Essays of comparative pathology of monkeys. Moscow: Medgiz; 1960. 303 p. (in Russ.)
69. Jezek Z., Grab B., Paluku K. M., Szczeniowski M. V. Human monkeypox: disease pattern, incidence and attack rates in a rural area of northern Zaire. *Trop. Geogr. Med.* 1988; 40 (2): 73–83. PMID: 2841783.
70. Jezek Z., Khodakevich L. N., Szczeniowski M. V. Обезьянья оспа человека: клинико-эпидемиологические характеристики. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.* 1988; (6): 23–30. PMID: 2845688.
71. Jezek Z., Khodakevich L. N., Szczeniowski M. V. Obes'ian'ia ospa cheloveka: kliniko-epidemiologicheskaia kharakteristika = Human monkey pox: its clinico-epidemiological characteristics. *Zh. Mikrobiol. Epidemiol. Immunobiol.* 1988; (6): 23–30. PMID: 2845688. (in Russ.)
72. McCollum A. M., Damon I. K. Human monkeypox. *Clin. Infect. Dis.* 2014; 58 (2): 260–267. DOI: 10.1093/cid/cit703.
73. Li Y., Zhao H., Wilkins K., Hughes C., Damon I. K. Real-time PCR assays for the specific detection of monkeypox virus West African and Congo Basin strain DNA. *J. Virol. Methods.* 2010; 169 (1): 223–227. DOI: 10.1016/j.jviromet.2010.07.012.
74. Damon I. K. Status of human monkeypox: clinical disease, epidemiology and research. *Vaccine.* 2011; 29 (4):D54-9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.04.014.
75. Durski K. N., McCollum A. M., Nakazawa Y., Petersen B. W., Reynolds M. G., Brien S., et al. Emergence of monkeypox – West and Central Africa, 1970-2017. *MMWR Morb. Mortal. Wkly Rep.* 2018; 67 (10): 306–310. DOI: 10.15585/mmwr.mm6710a5.
76. Sklenovská N., Van Ranst M. Emergence of monkeypox as the most important orthopoxvirus infection in humans. *Front. Public Health.* 2018; 6:241. DOI: 10.3389/fpubh.2018.00241.
77. Costello V., Sowash M., Gaur A., Cardis M., Pasieka H., Wortmann G., Ramdeen S. Imported monkeypox from international traveler, Maryland, USA, 2021. *Emerg. Infect. Dis.* 2022; 28 (5): 1002–1005. DOI: 10.3201/eid2805.220292.
78. Cunha B. E. Monkeypox in the United States: an occupational health look at the first cases. *AAOHN J.* 2004; 52 (4): 164–168. PMID: 15119816.
79. Ogoina D., Izibewule J. H., Ogunleye A., Ederiane E., Anebonam U., Neni A., et al. The 2017 human monkeypox outbreak in Nigeria – report of outbreak experience and response in the Niger Delta University Teaching Hospital, Bayelsa State, Nigeria. *PLoS One.* 2019; 14 (4):e0214229. DOI: 10.1371/journal.pone.0214229.
80. Alakunle E., Moens U., Nchinda G., Okeke M. I. Monkeypox virus in Nigeria: infection biology, epidemiology, and evolution. *Viruses.* 2020; 12 (11):1257. DOI: 10.3390/v12111257.
81. Кулькова К. ВОЗ: число инфицированных оспой обезьян в мире превысило 3,4 тысячи. *JustMedia.* Режим доступа: <https://www.justmedia.ru/news/russiaandworld/voz-chislo-infitsirovannykh-ospoi-obezyan-v-mire-prevysilo-34-tysyachi>.
82. Kulikova K. VOZ: chislo infitsirovannykh ospoi obez'yan v mire prevysilo 3,4 tysyachi = WHO: the number of monkeypox virus cases exceeded 3,4 thousand. *JustMedia.* Available at: <https://www.justmedia.ru/news/russiaandworld/voz-chislo-infitsirovannykh-ospoi-obezyan-v-mire-prevysilo-34-tysyachi>. (in Russ.)

64. Сергеев Ал. А., Булычев Л. Е., Пьянков О. В., Сергеев Ар. А., Боднев С. А., Кабанов А. С. и др. Чувствительность различных видов животных к вирусу оспы обезьян. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2012; 1 (111): 88–91. eLIBRARY ID: 17425343.
- Sergeev Al. A., Bulychov L. E., P'yankov O. V., Sergeev Ar. A., Bodnev S. A., Kabanov A. S., et al. Sensitivity of different animal species to monkeypox virus. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2012; 1 (111): 88–91. eLIBRARY ID: 17425343. (in Russ.)
65. Hutson C. L., Carroll D. S., Self J., Weiss S., Hughes C. M., Braden Z., et al. Dosage comparison of Congo Basin and West African strains of monkeypox virus using a prairie dog animal model of systemic orthopoxvirus disease. *Virology*. 2010; 402 (1): 72–82. DOI: 10.1016/j.virol.2010.03.012.
66. Сергеев Ал. А. Степной сурик – модельный вид животных для оспы обезьян: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Кольцово; 2015. 26 с.
- Sergeev Al. A. Steppnoi surok – model'nyi vid zhivotnykh dlya ospy obez'yan = Bobak marmot is monkeypox animal model: author's thesis ... Candidate of Science (Medicine). Koltsovo; 2015. 26 p. (in Russ.)
67. Yong S. E. F., Ng O. T., Ho Z. J. M., Mak T. M., Marimuthu K., Vasoo S., et al. Imported monkeypox, Singapore. *Emerg. Infect. Dis.* 2020; 26 (8): 1826–1830. DOI: 10.3201/eid2608.191387.
68. Львов Д. К. Оспа коров. В кн.: *Руководство по вирусологии: Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д. К. Львова*. М.: Мед. информ. агентств; 2013; 668–670.
- L'vov D. K. Cowpox. In: *Virology Manual: Viruses and viral infections in humans and animals*. Ed. by D. K. L'vov. Moscow: Medical Informational Agency Publishers; 2013; 668–670. (in Russ.)
69. Вирус осповакцины. Вирус оспы коров. Вирус оспы обезьян. *МедУнивер*. Режим доступа: <https://meduniver.com/Medical/Microbiology/708.html>.
- Pox vaccine virus. Cowpox virus. Monkeypox virus. *MedUniver*. Available at: <https://meduniver.com/Medical/Microbiology/708.html>. (in Russ.)
70. Виноградов И. В. Морфологические характеристики инфекции, вызываемой штаммом EP-2 вируса оспы коров у куриных эмбрионов и мышей: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Кольцово, 2004. 18 с.
- Vinogradov I. V. Morfoloicheskie kharakteristiki infektsii, vyzyvaemoi shtammom EP-2 virusa ospy korov u kurinykh embrionov i myshei = Morphological characteristics of infection caused by EP-2 strain of cowpox virus in chicken embryos and mice: author's thesis ... Candidate of Science (Biology). Koltsovo; 2004. 18 p. (in Russ.)
71. Виноградов И. В., Кочнева Г. В., Малкова Е. М., Щелкунов С. Н., Рябчикова Е. И. Экспериментальная инфекция, вызываемая штаммом EP-2 вируса оспы коров, у мышей разного возраста. *Вопросы вирусологии*. 2003. 48 (5): 34–38. eLIBRARY ID: 17038383.
- Vinogradov I. V., Kochneva G. V., Malkova E. M., Shchelkunov S. N., Ryabchikova E. I. An experimental infection caused by the EP-2 strain of cowpox virus in mice of different ages. *Problems of Virology*. 2003. 48 (5): 34–38. eLIBRARY ID: 17038383. (in Russ.)
72. Рябчикова Е. И., Виноградов И. В., Тимошенко О. В., Кочнева Г. В., Гуськов А. А. Изучение особенностей репродукции вирусов оспы коров и натуральной оспы *in vitro* и *in ovo*. Развитие международного сотрудничества в области изучения инфекционных заболеваний: тезисы Международной конференции. «Сосновка», Новосибирская область, 8–10 сентября 2004 г. Новосибирск: ЦЭРИС; 2004; 125.
- Ryabchikova E. I., Vinogradov I. V., Timoshenko O. V., Kochneva G. V., Gus'kov A. A. Izuchenie osobennostey reproduksii virusov ospy korov i natural'noi ospy in vitro i in ovo = Study of cowpox and smallpox virus reproduction in vitro and in ovo. Development of international cooperation in the field of infectious disease study: abstracts of the International Conference. "Sosnovka", Novosibirsk Oblast, September 8–10, 2004. Novosibirsk: TsERIS; 2004; 125. (in Russ.)
73. Kochneva G., Vinogradov I., Malkova E., Marennikova S., Ryabchikova E. Study of age-depend susceptibility of the mice to cowpox virus. Poster Session. XIIth International Congress of Virology. Paris; 2002; 460.
74. Eis-Hübingen A. M., Gerritzen A., Schneeweis K. E., Pfeiff B., Pullmann H., Mayr A., Czerny C. P. Fatal cowpox-like virus infection transmitted by cat. *Lancet*. 1990; 336 (8719): 880. DOI: 10.1016/0140-6736(90)92387-w.
75. Kurth A., Straube M., Kuczk A., Dunsche A. J., Meyer H., Nitsche A. Cowpox virus outbreak in banded mongooses (*Mungos mungo*) and jaguarundis (*Herpailurus yagouaroundi*) with a time-delayed infection to humans. *PLoS One*. 2009; 4 (9): e6883. DOI: 10.1371/journal.pone.0006883.
76. Львов С. Д., Громашевский В. Л., Маренникова С. С. и др. Изоляция поксвируса (*Poxviridae*, *Poxvirus*, комплекс оспы коров) от полевки-экономки *Microtus (M.) oeconomus* Pall., 1778 в лесотундре Колского полуострова. *Вопросы вирусологии*. 1978; 23 (1): 92–94.
- L'vov S. D., Gromashevskii V. L., Marennikova S. S., et al. Izolyatsiya poksvirusa (*Poxviridae*, *Poxvirus*, kompleks ospy korov) ot polevki-ekonomki *Microtus (M.) oeconomus* Pall. 1778 v lesotundre Kol'skogo poluostrova = Isolation of poxvirus (*Poxviridae*, *Poxvirus*, the cowpox complex) from the root vole *Microtus (M.) oeconomus* Pall., 1778 in the forest-tundra of the Kola Peninsula. *Problems of Virology*. 1978; 23 (1): 92–94. (in Russ.)
77. Цанав Ш. А., Маренникова С. С., Сакварелидзе М. А. и др. Выделение вируса оспы коров от краснохвостой песчанки. *Вопросы вирусологии*. 1989; 34 (1): 95–97.
- Tsanava Sh. A., Marennikova S. S., Sakvarelidze M. A. et al. Vydelenie virusa ospy korov ot krasnokhvostoi peschanki = Isolation of cowpox virus from the red tailed gerbil. *Problems of Virology*. 1989; 34 (1): 95–97. (in Russ.)
78. Chantrey J., Meyer H., Baxby D., Begon M., Bown K. J., Hazel S. M., et al. Cowpox: reservoir hosts and geographic range. *Epidemiol. Infect.* 1999; 122 (3): 455–460. DOI: 10.1017/s0950268899002423.
79. Marennikova S. S., Shelukhina E. M. White rats as source of pox infection in carnivora of the family *Felidae*. *Acta Virol.* 1976; 20 (5): 442. PMID: 11675.
80. Coras B., Essbauer S., Pfeffer M., Meyer H., Schröder J., Stolz W., et al. Cowpox and a cat. *Lancet*. 2005; 365 (9457): 446. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)17836-2.
81. Cardeti G., Brozzi A., Eleni C., Polici N., D'Alterio G., Carletti F., et al. Cowpox virus in Ilama, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 2011; 17 (8): 1513–1515. DOI: 10.3201/eid1708.101912.
82. Kapil S., Yearly T., Evermann J. F. Viral diseases of new world camels. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2009; 25 (2): 323–337. DOI: 10.1016/j.cvfa.2009.03.005.
83. Potel K., Voigt A., Hiepe T., Kronberger H., Heider G., et al. Eine bössartige Haut- und Schleimhauterkrankung bei Elefanten. *Der Zoologische Garten*. 1963; 27: 1–103.
84. Martina B. E., van Doornum G., Dorrestein G. M., Niesters H. G., Stittelaar K. J., Wolters M. A., et al. Cowpox virus transmission from rats to monkeys, the Netherlands. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12 (6): 1005–1007. DOI: 10.3201/eid1206.051513.
85. Сюрин В. Н., Самуйленко А. Я., Соловьев Б. В., Фомина Н. В. Поксвирусные инфекции. В кн.: *Вирусные болезни животных*. М.: ВНИТИБ; 2001; 722–769.
- Syurin V. N., Samuilenko A. Ya., Solov'ev B. V., Fomina N. V. Poxvirus infections. In: *Viral animal diseases*. Moscow: VNITIBP; 2001; 722–769. (in Russ.)
86. Оспа коров. Ветеринарная служба Владимирской области. Режим доступа: <https://vetvo.ru/ospa-korov.html>.
- Cow pox. Veterinary Service of the Vladimir Oblast. Available at: <https://vetvo.ru/ospa-korov.html>. (in Russ.)
87. Vorou R. M., Papavassiliou V. G., Pierroutsakos I. N. Cowpox virus infection: an emerging health threat. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 2008; 21 (2): 153–156. DOI: 10.1097/QCO.0b013e3282f44c74.
88. Эдвард Дженнер. *Биограф*. Режим доступа: <https://biographie.ru/uchenie/edward-gener>.
- Edward Jenner. *Biographie*. Available at: <https://biographie.ru/uchenie/edward-gener>. (in Russ.)
89. Karmakar A., Saha G. R. Localised form of pox infection amongst buffaloes in West Bengal (India). *Indian J. Animal Health*. 1989; 28 (1): 85–87.
90. Ghosh T. K., Arora R., Sehgal C. L., Ray S., Watal B. L. An investigation of buffalopox outbreak in animals and human beings in Dhulia District (Maharashtra State). 2. Epidemiological studies. *The Journal of Communicable Diseases*. 1977; 9: 93–101.
91. Rani N. L., Manda Srinivas, Chand K. P., Aruna P. Buffalo pox as a zoonotic disease. *Intas Polivet*. 2006; 7 (2): 352–353. Режим доступа: <https://www.cabi.org/isc/abstract/20073017456>.
92. Venkatesan G., Balamurugan V., Prabhu M., Yogisharadhya R., Bora D. P., Gandhale P. N., et al. Emerging and re-emerging zoonotic buffalopox infection: a severe outbreak in Kolhapur (Maharashtra), India. *Vet. Ital.* 2010; 46 (4): 439–448. PMID: 21120799.
93. Mahmood M. A., Shah M. A. Out-breaks of pox like disease in buffaloes. *Pakistan Vet. J.* 1985; 5 (2): 94–95.
94. Yadav S., Hosamani M., Balamurugan V., Bhanuprakash V., Singh R. K. Partial genetic characterization of viruses isolated from pox-like infection in cattle and buffaloes: evidence of buffalo poxvirus circulation in Indian cows. *Arch. Virol.* 2010; 155 (2): 255–261. DOI: 10.1007/s00705-009-0562-y.
95. Camel pox. In: *WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2022; Chapter 3.5.1. Режим доступа: <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-manual-online-access>.
96. Mayer A., Czerny C. P., Mayr P. A., Czerny C.-P. Camel pox virus. In: *Virus Infections of Ruminants. Virus Infections of Vertebrates Series*. Ed. by Z. Dinter, B. Morein. Chapter 4. Elsevier; 1990; 19–22. DOI: 10.1016/B978-0-444-87312-5.50012-6.
97. Wernery U., Meyer H., Pfeffer M. Camel pox in the United Arab Emirates and its prevention. *Journal of Camel Practice and Research*. 1997; 4 (2): 135–139.
98. Wernery U., Kaaden O. R. Camel pox. In: *Infectious Diseases in Camelids, 2nd ed.* Ed. by U. Wernery, O. R. Kaaden. Vienna: Blackwell Science Berlin; 2002; 176–185.
99. Davies F. G., Mungai J. N., Shaw T. Characteristics of a Kenyan camel pox virus. *J. Hyg. (Lond)*. 1975; 75 (3): 381–385. DOI: 10.1017/s002217240002444x.
100. Tantawi H. H., Saban M. S., Reda I. M., Dahaby H. E. Camel pox virus in Egypt. I. Isolation and characterization. *Bull. Epizoot. Dis. Afr.* 1974; 22 (4): 315–319. PMID: 4378004.
101. Kinne J., Cooper J. E., Wernery U. Pathological studies on camel pox lesions of the respiratory system in the United Arab Emirates (UAE). *J. Comp. Pathol.* 1998; 118 (4): 257–266. DOI: 10.1016/s0021-9975(07)80002-8.
102. Kriz B. A study of camel pox in Somalia. *J. Comp. Pathol.* 1982; 92 (1): 1–8. DOI: 10.1016/0021-9975(82)90037-8.
103. Pfeffer M., Neubauer H., Wernery U., Kaaden O. R., Meyer H. Fatal form of camel pox virus infection. *Vet. J.* 1998; 155 (1): 107–109. DOI: 10.1016/s1090-0233(98)80045-2.
104. Wernery U., Zachariah R. Experimental camel pox infection in vaccinated and unvaccinated dromedaries. *Zentralbl. Veterinarmed. B.* 1999; 46 (2): 131–135. DOI: 10.1111/j.0931-1793.1999.00250.x.

Поступила в редакцию / Received 26.07.2022

Поступила после рецензирования / Revised 02.08.2022

Принята в публикации / Accepted 02.09.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Груздев Константин Николаевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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



Респираторные заболевания молодняка крупного рогатого скота

Т. С. Ермилова¹, М. А. Самбунова², О. В. Кашарная³, Э. А. О. Салимзаде⁴

^{1,3,4} ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», г. Астрахань, Россия

² ООО «БИОС», Москва, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-8251-8545>, e-mail: tatjana.br94@yandex.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-9551-0860>, e-mail: samburova.m.20@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-3402-2729>, e-mail: olga.i.karat@yandex.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-4389-2892>, e-mail: salimzade.emil@bk.ru

РЕЗЮМЕ

В обзорной статье рассматриваются современные научные сведения о заболеваниях органов дыхания у молодняка крупного рогатого скота. Проблема респираторных заболеваний у телят не теряет актуальности, поскольку данные патологии занимают второе по распространенности место после болезней органов пищеварения. С целью систематизации данных проведен обзор работ отечественных и зарубежных исследователей и коллективов, доступных в сборниках научных конференций, семинаров, симпозиумов, а также в рецензируемых периодических научных изданиях, материалах диссертаций и авторефератов. Рассматриваемая группа патологий в достаточной степени разнообразна, может провоцироваться скученным содержанием животных, перегревом, переохлаждением, несбалансированным кормлением, дефицитом микроэлементов, снижением резистентности организма, неблагоприятной эпизоотической ситуацией и многими другими факторами. Однако среди основных заболеваний телят следует особо выделить пневмонию, которую чаще всего вызывают вирусы. При этом возбудители способны инициировать деятельность ряда бактерий, усугубляющих и осложняющих течение вирусных заболеваний. Такие микроорганизмы, как сальмонеллы, пастереллы и другие, становятся участниками вторичного инфекционного процесса и создают смешанные формы пневмоний. Другое освещаемое в работе заболевание – бронхопневмония. Это респираторная патология, характеризующаяся воспалением одновременно бронхов и легких. В промышленном животноводстве такие формы заболеваний, как правило, встречаются наиболее часто, имеют повсеместное распространение и наносят значительный экономический ущерб отраслям молочного и мясного скотоводства. Названным патологиям в статье уделяется наибольшее внимание, обосновывается важность комплексных мер профилактики и своевременной диагностики в условиях промышленных животноводческих предприятий. Для снижения частоты возникновения респираторных заболеваний среди молодняка крупного рогатого скота необходимо четко следовать технологическим и гигиеническим нормам содержания и кормления животных. Использование комбинированных лекарственных средств и препаратов, содержащих микроэлементы, повышает эффективность лечения.

Ключевые слова: обзор, молодняк крупного рогатого скота, органы дыхания, респираторные заболевания, пневмония, бронхопневмония

Для цитирования: Ермилова Т. С., Самбунова М. А., Кашарная О. В., Салимзаде Э. А. О. Респираторные заболевания молодняка крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 203–209. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-203-209.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Самбунова Маргарита Александровна, научный сотрудник ООО «БИОС», 105187, г. Москва, ул. Вольная, д. 37, помещ. 1, эт. 4, e-mail: samburova.m.20@mail.ru.

Respiratory diseases in young cattle

T. S. Ermilova¹, M. A. Samburova², O. V. Kasharnaya³, E. A. O. Salimzade⁴

^{1,3,4} FSBEI HE "Astrakhan State University", Astrakhan, Russia

² "BIOS" LLC, Moscow, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-8251-8545>, e-mail: tatjana.br94@yandex.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-9551-0860>, e-mail: samburova.m.20@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-3402-2729>, e-mail: olga.i.karat@yandex.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-4389-2892>, e-mail: salimzade.emil@bk.ru

SUMMARY

The following review considers modern scientific data on respiratory diseases in young cattle. The problem of respiratory diseases in calves does not lose its relevance, since these pathologies rank second in frequency after diseases of the digestive system. In order to compile the data, the works of domestic and foreign researchers and collectives available in the collections of scientific conferences, seminars, symposiums, as well as in peer-reviewed periodicals, materials of dissertations and abstracts were reviewed. The group of pathologies under consideration is sufficiently diverse and can be caused by high animal density in the premises, overheating, hypothermia, unbalanced feeding, micronutrient deficiency, decreased body resistance, unfavorable epidemic situation and many other factors. However, out of the major calf diseases, particular mention should be made of pneumonia, which is most often caused by viruses. In this case agents can induce bacterial infection

which aggravates and complicates the course of viral diseases. Microorganisms, such as *Salmonella*, *Pasteurella* and others, contribute to secondary infection and cause mixed forms of pneumonia. Bronchopneumonia is another disease covered in the article. It is a respiratory pathology characterized by inflammation of both the bronchi and lungs. As a rule, such disease types are most common in industrial animal husbandry, they are widespread and cause significant economic damage to the dairy and beef cattle breeding industries. The article pays great attention to these pathologies, justifies the importance of comprehensive preventive measures and timely diagnosis for livestock industries. To reduce the incidence of respiratory diseases in young cattle, it is necessary to strictly follow technological and hygienic standards for animal keeping and feeding. The use of combined medicines and preparations containing microelements increases treatment effectiveness.

Keywords: review, young cattle, respiratory organs, respiratory diseases, pneumonia, bronchopneumonia

For citation: Ermilova T. S., Samburova M. A., Kasharnaya O. V., Salimzade E. A. O. Respiratory diseases in young cattle. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 203–209. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-203-209.

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

For correspondence: Margarita A. Samburova, Researcher, "BIOS" LLC, 105187, Russia, Moscow, ul. Vol'naya, 37, pomeshch. 1, et. 4, e-mail: samburova.m.20@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Патологии органов дыхания молодняка крупного рогатого скота являются одной из основных причин потерь поголовья в молочном животноводстве. Среди телят первого месяца жизни они регистрируются в 17,2–23,6% случаев [1]. В возникновении респираторных заболеваний у телят основную роль чаще всего играют вирусы парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита, реже – парво- и аденовирусы, а также вирусы диареи, гриппа и иммунодефицита. В связи с этим необходим комплексный подход к профилактике и лечению респираторных заболеваний у животных [2–4]. Важным моментом в решении проблем сохранения поголовья крупного рогатого скота и увеличении производства продуктов животного происхождения является своевременная диагностика, профилактика и лечение заболеваний незаразной этиологии, среди которых следует отметить пневмонию и бронхопневмонию, при которых возникает воспаление бронхов и легких [5–7]. Патология начинается с образования в легочной паренхиме серозного экссудата, что характерно для катарального воспаления легких. Когда первично поражаются бронхи и процесс быстро распространяется по бронхиальному дереву, то такое заболевание, встречающееся преимущественно у телят, называют бронхопневмонией [8, 9]. Среди основных причин, провоцирующих возникновение болезни в зимний период, – переохлаждение, в летний – перегревание. Отрицательное воздействие на резистентность организма телят оказывает некачественное кормление и недополучение ими нутриентов в ходе внутриутробного развития и в период новорожденности [10, 11].

Целью данной статьи стал анализ современных литературных сведений о респираторных заболеваниях молодняка крупного рогатого скота, вызывающих их причинах, а также способах предотвращения и терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Методологические подходы аргументированы обзором работ отечественных и иностранных исследователей, представленных в сборниках научных конференций, семинаров, симпозиумов, рецензируемых периодических научных изданиях, материалах диссертаций и авторефератов. Произведен анализ полученных данных и результатов исследований по данной

проблематике. В обзоре приведены данные по исследованиям молодняка крупного рогатого скота, проводимым на базе хозяйств Саратовской, Воронежской, Нижегородской, Новосибирской, юга Тюменской областей.

Дыхательная система крупного рогатого скота состоит из верхних (носовая полость, придаточные пазухи, часть ротовой полости, глотка) и нижних (гортань, трахея, бронхи, альвеолы легких) дыхательных путей. Верхние дыхательные пути, трахея и бронхи составляют проводящую часть системы. Главная функция дыхательной системы заключается в газообмене – доставке в организм кислорода и выведении из него углекислого газа. В верхних дыхательных путях согревается и обеззараживается попадающий в легкие воздух, в нижних – происходит осуществляемый за счет легочных структур газообмен [12].

Респираторные заболевания, имеющие разную этиологию, могут возникать у животных до нескольких раз за год. У продуктивных сельскохозяйственных животных от общего числа заболеваний незаразной этиологии респираторные составляют примерно 35%, у неподуктивных – 13–15% [13, 14]. Среди причин возникновения респираторных заболеваний у телят можно выделить незаразные факторы, способствующие возникновению заболевания, и инфекционные факторы: вирусы и вторичную бактериальную инфекцию, вызванную патогенной микрофлорой.

К заболеваниям верхних дыхательных путей относят фарингит (воспаление слизистых оболочек и лимфоидной ткани глотки), ринит (воспаление слизистой оболочки носа), синусит и гайморит (воспаление слизистых оболочек носовых пазух), ангину и тонзиллит (воспаление миндалин). Среди заболеваний нижних дыхательных путей встречаются бронхит (воспаление бронхов), пневмония (воспаление легочной ткани), бронхопневмония (воспаление бронхов и долей легкого с накоплением в альвеолах экссудата), ларингит (воспаление гортани), трахеит (воспаление слизистых оболочек трахеи), плеврит (воспаление плевральных листков), альвеолит (воспаление легочных альвеол) [15, 16].

Несмотря на разную этиологию и пути распространения респираторных заболеваний, имеется ряд общих черт развития патогенеза. К ним можно отнести секрецию слизи в бронхах; слушивание покровного

эпителии слизистой оболочки, элементы которого поступают вместе с кровью в просвет бронхов; уменьшение функционального легочного объема; нарушение диффузионной способности легких, приводящее к изменению состава крови; снижение эластичности стенок бронхов и легких, повышающее затраты энергии на дыхание. Тяжелые формы заболеваний дыхательной системы приводят к падежу или вынужденной выбраковке животных [17, 18].

К незаразным факторам, способствующим развитию респираторных болезней, можно отнести внутриутробные нарушения развития эмбриона, гипоксию, гестоз, провоцирующие изменения в функциональной деятельности фетоплацентарного комплекса, нарушения адаптационных процессов в постнатальный период. К ним также следует причислить повышенную плотность содержания животных в помещении и его загазованность [19, 20]. Превышение уровня содержания углекислого газа, аммиака, метана, сероводорода вызывает раздражение слизистых оболочек и приводит к воспалению дыхательных путей. Нарушение санитарно-гигиенических норм в помещениях, где содержатся животные, приводит к высокой контаминации слизистых условно-патогенными и патогенными микроорганизмами. Респираторные заболевания у животных могут возникнуть при снижении активности ферментов антиоксидантной защиты, обеспеченности витаминами, выполняющими роль антиоксидантов, поскольку усиливающееся свободнорадикальное окисление представляет собой ведущий фактор воспалительного процесса [20, 21]. Кроме недостатка витаминов на неспецифическую резистентность телят отрицательно влияет дефицит микроэлементов, задействованных в механизмах иммунной защиты и синтезе антиоксидантных ферментов, например селена, йода и цинка.

Вирусы и бактерии атакуют эндотелий бронхов и проникают в ткани дыхательных путей, затем с током крови разносятся по организму. Перепады температур, повышенная влажность в помещении, неполноценный рацион и несбалансированное по витаминам и минеральным элементам питание также способствуют возникновению заболеваний. Вирусные инфекции при наличии способствующих факторов быстро распространяются среди телят и вызывают воспалительные реакции. Вторичные бактериальные инфекции вызывают гнойные процессы в легких, что приводит к гибели животных [22].

К вирусным инфекциям относят инфекционный ринотрахеит (герпесвирусную инфекцию), вызывающий у молодняка поражение слизистой оболочки дыхательных путей, при осложнении бактериальными агентами заболевание протекает в виде гнойной пневмонии. Среди основных клинических признаков патологии – ринит, серозно-катаральные истечения из носоглотки, конъюнктивит. Заболеванию подвержены в основном телята 1,5–4-месячного возраста.

При парагриппе-3 поражаются легкие телят 3–6-месячного возраста. Клиническими признаками являются кашель и гнойные истечения из носоглотки, у животных повышается температура тела. Заболеванию у крупного рогатого скота часто протекает в ассоциации с другими вирусными и бактериальными агентами, например с *Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica*. Отмечается высокая вероятность иммунодепрессивного действия вируса [23].

Респираторно-синцитиальная вирусная инфекция, протекающая в виде латентной или острой респираторной болезни, выражается высокой температурой, катаром верхних дыхательных путей, серозным ринитом. Прогноз заболевания чаще всего благоприятный.

Вирусная диарея – болезнь слизистых крупного рогатого скота чаще всего возникает при внутриутробном заражении. Инфекция оказывает сильное влияние на иммунную систему животного, характеризуется развитием как кишечного, так и респираторного синдрома, наблюдается образование язв на слизистых оболочках.

К вторичным бактериальным инфекциям относят пастереллез (возбудитель *Mannheimia haemolytica* и *Pasteurella multocida* серотипа А), вызывающий пневмонию при наличии способствующих факторов или осложняющий течение основного вирусного заболевания.

Наиболее распространенным возбудителем микоплазмоза крупного рогатого скота является *Mycoplasma bovis*, которая становится основной причиной пневмонии молодняка. Заболеванию возникает на фоне вирусной диареи, ринотрахеита, коронавирусной инфекции, часто в раннем возрасте. У телят наблюдаются снижение аппетита, угнетенное состояние, истечения из носа, влажный кашель, хрипы. Другие бактерии, вызывающие вторичную пневмонию у крупного рогатого скота, – гемофилы, клебсиеллы, стрептококки [22].

Пневмония у телят возникает вследствие инфекции верхних дыхательных путей. Патогенные микроорганизмы, находящиеся на слизистой оболочке полости носа, околоносовых пазух, среднего уха и гортани, могут быть источником инфекции нижних отделов дыхательной системы. Ринит и воспаление околоносовых пазух имеют частое распространение у телят первого месяца жизни и являются предшественниками пневмонии [24]. При стрессовых состояниях, когда защитные механизмы организма нарушаются, патогенная микрофлора вызывает развитие воспаления [25]. Возникновение воспалительного процесса происходит в альвеолах, бронхах, отдельных долях легкого или всего органа. В зависимости от выделяющегося экссудата болезнь разделяют на катаральную, фибринозную, серозную, гнилостную, геморрагическую, гнойную, смешанную. Катаральная и фибринозная – самые распространенные. Среди клинических признаков пневмонии отмечают: частое дыхание с хрипами (более 60 вдохов/мин); выделение экссудата из носа, реже из глаз; кашель, иногда с гнойными хлопьями; повышение температуры тела до 41–42 °С; диарею; угнетенное состояние; отсутствие образования жвачки. Пневмония у телят 4–5 месяцев может перейти в хроническую форму с вяло выраженными симптомами, при этом у животных отмечается отставание в росте. Если причиной заболевания телят являются способствующие факторы и вторичная бактериальная инфекция, необходимо лечение антибиотиками. В случае вирусных и вторичных бактериальных инфекций эффективна специфическая профилактика [22, 26].

Проявление бронхопневмонии выражается воспалением долей легкого и бронхов с накоплением в альвеолах экссудата и десквамированных клеток эпителия [27, 28]. Условно-патогенные микроорганизмы вызывают воспаление бронхов, бронхиол и альвеол. Кроме существенных патологических изменений в легких происходят нарушения функций центральной

нервной, сердечно-сосудистой и других систем организма [29].

Как отмечают исследователи, среди патологий незаразной этиологии у 1,5–3,5-месячных телят лидирующие позиции по массовости заболевания и распространению занимает острая бронхопневмония. По некоторым данным, в Воронежской, Нижегородской, Новосибирской областях в разные годы патологией дыхательной системы бывает поражено от 29,10 до 59,36% телят в год, гибнет 6–35% от общего поголовья молодняка. У животных, перенесших заболевание, наблюдается отставание в росте и развитии, что делает их непригодными для дальнейшего использования [30]. При клиническом осмотре телят при данной патологии выявляют угнетенное состояние: опущенные уши, снижение аппетита, отдаление от стада, затем появляются респираторные признаки – повышение температуры до 40 °С, истечение из носа, кашель, одышка, хрипы [31]. Применяют три основные тактики лечения: купирование бактериального агента, удаление из бронхов скопившегося экссудата и ликвидацию интоксикации в организме животного [30]. Для профилактики появления бронхопневмонии у телят необходимо следить за гигиеной мест содержания, температурным режимом, производить формирование полноценного рациона для животных [3].

Важное влияние на возникновение респираторных заболеваний у молодняка оказывает минеральный статус, зависящий от рациона коров-матерей и задаваемых молодым животным кормов. Внутритрунная задержка развития плода формируется на фоне дефицита таких микроэлементов, как медь, селен, цинк, кобальт, марганец, и далее сопровождается увеличением числа респираторных заболеваний у молодняка в неонатальный период в 2,08 раза, бронхопневмоний – в 7,14 раза по сравнению с потомством коров с физиологическим течением беременности, что вместе с другими факторами или осложненным течением стельности сопровождается ослаблением системы антиоксидантной защиты и возникновением оксидативного стресса [32, 33].

В результате исследований D. Shukla et al. [34] было доказано участие кобальта в антиоксидантной защите легких, его недостаток наряду с дефицитом меди, цинка, марганца и селена, регулирующих активность глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы, каталазы, является фактором риска развития бронхопневмонии у телят.

Внутритрустные нарушения, возникающие на фоне недостатка микроэлементов у стельных коров, способствуют развитию респираторных заболеваний у телят. Состояние организма матери определяет полноценность развития плода, качество молозива и молока [35]. Шапошниковым И. Т. и соавт. [36] было установлено, что с нарушением белкового и углеводного обмена веществ при дефиците кальция у глубокостельных коров возникает недостаточность антиоксидантной системы защиты организма, ведущая к развитию респираторных и желудочно-кишечных болезней их потомства. Результаты других исследований [33, 37] доказали участие оксидативного стресса в патогенезе респираторных болезней у молодняка крупного рогатого скота. Авторами было установлено, что недостаточность системы антиоксидантной защиты, вызванная в том числе дефицитом микроэлементов, на функциональном уровне

нарушает регуляцию процессов свободнорадикального окисления и способствует возникновению избыточного количества токсичных продуктов перекисидации белков и липидов в бронхоальвеолярной жидкости и крови больных животных, что, наряду с повреждением клеточных мембран, угнетает иммунную систему.

На увеличении числа заболеваний телят пневмонией и бронхопневмонией сказываются химические, физические, биологические и экологические факторы окружающей среды. Это подтверждают исследования, проведенные В. М. Аксеновой и соавт. [27]. На возникновение и течение болезней оказывает влияние состояние защитных систем легких и бронхов, вызванное поражением организма животного патогенной микрофлорой, и факторы, способствующие ослаблению иммунитета [38, 39]. Доказано, что переохлаждение молодняка приводит к снижению концентрации общих иммуноглобулинов в сыворотке крови и развитию патологий дыхательной системы у 59–69% телят. Определенную роль в развитии легочных заболеваний у телят может сыграть разбалансирование системы связи «организм – окружающая среда». Существует зависимость между выбросами в атмосферу оксида углерода, углеводородов и заболеваемостью респираторными болезнями у животных. Отмечено увеличение уровня смертности от патологий дыхательной системы у молодняка в городах с повышенным уровнем загрязнения атмосферы [40].

Наиболее восприимчивы к респираторным болезням телята в возрасте до года, причем переболевшие животные могут заболеть снова [3]. Поскольку данные патологии широко распространены, процент заболеваемости достаточно высок и существует угроза рецидивов, необходима разработка эффективных схем лечения с использованием современных препаратов [31].

При выздоровлении после бронхопневмонии телятам в качестве дополнения к общепринятой терапии, включающей этиотропное лечение и новокаиновую блокаду 0,6%-м раствором пероксида водорода на 0,9%-м растворе хлорида натрия в дозе 0,4 мл/кг, рекомендуется введение в первые сутки 4 мл препарата «Антимиопатик», который способствует устранению недостаточности антиоксидантной защиты и кислотно-основного состояния. Данный комплексный препарат создан на основе витаминов и микроэлементов, успешно восполняет дефицитные элементы в организме животных и влияет на стабилизацию микроэлементного гомеостаза.

Для профилактики развития респираторных заболеваний в неонатальный период коровам-матерям за 60, 40 и 20 сут до отела применяют введение препарата «Антимиопатик» в разовой дозе 10 мл, что вызывает усиление антиоксидантной защиты у новорожденных телят и уменьшение оксидативного стресса, более быструю компенсацию послеродовой гипоксии, ацидоза и приводит к скорейшему формированию колострального иммунитета [19].

Патологии органов дыхания влекут за собой существенные экономические потери в промышленном животноводстве. Для повышения эффективности лечения пневмоний на животноводческих предприятиях требуется оптимизация рационов молодняка, использование комбинированных лекарственных средств и препаратов, содержащих микроэлементы. Нормы содержания животных должны соответствовать существующим

требованиям [41]. Необходим комплексный подход в вопросах лечения пневмоний и бронхопневмоний, так как этиология заболеваний многофакторна. В связи с этим в современном производстве ветеринары в схемах терапии респираторных болезней используют витаминно-минеральные комплексы, препараты и антибиотики широкого спектра действия [42].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время респираторные заболевания широко распространены среди молодняка крупного рогатого скота, они характеризуются разнообразной патогенетической, но наиболее общим фактором развития патологии становится снижение резистентности организма теленка. В связи с этим необходимы мероприятия для предупреждения и оперативного выявления пневмонии, бронхопневмонии и других болезней дыхательной системы, включающие в себя клинический осмотр животных, исследования крови, а также внедрение эффективных схем лечения и профилактики.

Для снижения частоты возникновения респираторных заболеваний среди молодняка крупного рогатого скота требуется четко следовать технологическим и гигиеническим нормам содержания и кормления животных. Высокое профилактическое действие оказывают своевременная вакцинация телят и назначение витаминно-минеральных премиксов.

Подобные меры профилактики способствуют сокращению заболеваемости животных и, следовательно, снижают затраты на лечение и вероятность преждевременного выбытия молодняка, предотвращая таким образом экономические потери сельскохозяйственных предприятий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Guterbock W. M. The impact of BRD: the current dairy experience. *Anim. Health Res. Rev.* 2014; 15 (2): 130–134. DOI: 10.1017/S1466252314000140.
- Глотов А. Г., Петрова О. Г., Глотова Т. И., Нефедченко А. В., Татарчук А. Т., Котенева С. В. и др. Распространение вирусных респираторных болезней крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2002; 3: 17–21. eLIBRARY ID: 22435011.
- Шульга Н. Н., Рябуха В. А., Шульга И. С., Дикунина С. С., Дудкина Д. В. Этиология респираторных болезней телят на Дальнем Востоке. *Ветеринария и кормление*. 2014; 2: 15–16. Режим доступа: <http://vet.korm.ru/magazines/veterinariya-i-kormlenie-2-mart-aprel-2014g>.
- Зиминова А. П., Бадова О. В. Усовершенствование схемы лечения бронхопневмонии телят при беспривязном групповом содержании. *Молодежь и наука*. 2017; 3: 20. eLIBRARY ID: 29148337.
- Дикунина С. С., Плавшак Л. П., Шульга И. С., Шульга Н. Н. Технологическая схема профилактики респираторных болезней новорожденных телят. *Вестник КрасГАУ*. 2015; 12: 198–202. eLIBRARY ID: 25054298.
- Сивков Г. С., Домацкий В. Н., Павлов С. Д., Павлова Р. П., Деркач С. В., Глазунова Л. А. и др. Защита крупного рогатого скота от патогенов. Тюмень: ВекторБук; 2010. 152 с.
- Гагарин Е. М., Глазунов Ю. В. Эффективность терапевтических профилактических мероприятий при ортопедических патологиях у крупного рогатого скота в условиях современного животноводческого комплекса. *Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения: сборник материалов III Международной студенческой научно-практической конференции*. Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья; 2018; 241–245. eLIBRARY ID: 35230431.
- Плотников И. В., Глазунова Л. А. Анализ причин выбытия крупного рогатого скота в Тюменской области. *Инновационные тенденции развития российской науки: материалы X Международной научно-практической конференции молодых ученых, посвященной Году экологии и 65-летию Красноярского ГАУ*. 2017; 80–82. eLIBRARY ID: 29213001.
- Плотников И. В., Глазунова Л. А. Изучение эффективности режимов аэрозольной дезинфекции скотоводческих помещений в присутствии животных. *Вестник КрасГАУ*. 2019; 9: 91–97. eLIBRARY ID: 41172908.
- Краповническая В. В., Глазунов Ю. В. Современные методы лечения бронхопневмонии на предприятии юга Тюменской области. *Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения: сборник материалов LIV Студенческой научно-практической конференции*. Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья; 2020; 322–328. eLIBRARY ID: 44432838.
- Lee S., Kim J., Kim D. Bacterial pathogens and their antimicrobial susceptibility in calves with summer pneumonia. *J. Vet. Clin.* 2017; 34 (3): 161–164. DOI: 10.17555/jvc.2017.06.34.3.161.
- Lopez A., Martinson S. A. Respiratory System, Mediastinum, and Pleurae. In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. Ed. J. F. Zachary. 6th ed. 2017; Chapter 9: 471–560. DOI: 10.1016/B978-0-323-35775-3.00009-6.
- Кастарнова Е. С., Оробец В. А. Аллергизирующие и раздражающие свойства новых селективных препаратов на основе экзосомальных и хитозановых частиц. *Научная жизнь*. 2020; 15 (7): 999–1006. DOI: 10.35679/1991-9476-2020-15-7-999-1006.
- Рязанцев С. В., Коцеровцев В. И. Этиопатогенетическая терапия заболеваний верхних дыхательных путей и уха. Методические рекомендации. СПб.: Национальный регистр; 2008. 100 с.
- Маркова Т. П. Профилактика и лечение респираторных инфекций. *Русский медицинский журнал*. 2010; 18 (2): 77–81. Режим доступа: https://www.rmj.ru/articles/infekcionnyye_bolezni/Profilaktika_i_lechenie_respiratornyh_infekciy.
- Гаскелл Р. М., Беннет М. М. Справочник по инфекционным болезням собак и кошек. М.: Аквариум-Принт; 2015. 200 с.
- Peek S. F., Ollivett T. L., Divers T. J. Respiratory Diseases. In: *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*. Eds. S. F. Peek, T. J. Divers. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 2018; 94–167. DOI: 10.1016/B978-0-323-39055-2.00004-8.
- Chung K. F., Caramori G., Groneberg D. A. Airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351 (14): 1459–1461; DOI: 10.1056/NEJM200409303511420.
- Калаева Е. А., Калаев В. Н., Черницкий А. Е., Алхамед М., Сафонов В. А. Роль микроэлементного и гематологического статуса матери и плода в формировании предрасположенности к развитию бронхопневмонии у телят в неонатальный период. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2019; 2: 44–53. DOI: 10.25687/1996-6733.prodnimbiol.2019.2.44-53.
- Chamberlain T. Environmental aspects of pneumonia control in calf units on British dairy farms. *Livestock*. 2015; 20 (6): 306–314. DOI: 10.12968/live.2015.20.6.306.
- Рецкий М. И., Близначева Г. Н., Нежданов А. Г., Сафонов В. А., Венцова И. Ю. Влияние дисбаланса активных форм кислорода и азота на развитие послеродовых осложнений у коров. *Ученые записки ЮУ ВГАВМ*. 2011; 47 (2-2): 102–104. Режим доступа: <https://repo.vsvm.by/bitstream/123456789/572/3/z-2011-47-2-2-102-104.pdf>.
- Олейник А. Стратегия профилактики респираторных болезней телят. *Молочное и мясное скотоводство*. 2009; 6: 35–36. eLIBRARY ID: 12836643.
- Albayrak H., Yazici Z., Ozan E., Tamer C., Abd El Wahed A., Wehner S., et al. Characterisation of the first bovine parainfluenza virus 3 isolate detected in cattle in Turkey. *Vet. Sci.* 2019; 6 (2):56. DOI: 10.3390/vetsci6020056.
- Кукина О. В. Хирургический метод лечения синуситов у телят. *Международный вестник ветеринарии*. 2015; 3: 13–18. eLIBRARY ID: 24310214.
- Bosch A. A., Biesbroek G., Trzcinski K., Sanders E. A., Bogaert D. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (1):e1003057. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003057.
- Нежданов А. Г., Шабунин С. В., Сафонов В. А., Маланыч Е. В. Системное решение проблемы сохранения репродуктивного потенциала молочного скота в условиях промышленных технологий его эксплуатации. *Аграрная наука – сельскохозяйственному производству Сибири, Казахстана, Монголии, Беларуси и Болгарии: сборник научных докладов XX Международной научно-практической конференции*. Новосибирск: СФНЦА РАН; 2017; 260–262. eLIBRARY ID: 30507682.
- Аксенова В. М., Никулина Н. Б., Гурова С. В. Особенности гемостаза телят при бронхопневмонии (обзор). *Пермский аграрный вестник*. 2017; 2 (18): 126–131. eLIBRARY ID: 29372562.
- Аржанова Е. Н., Антипов В. А., Басова Н. Ю. Применение политрила и иммунофана при бронхопневмонии телят. *Научный журнал КубГАУ*. 2011; 70: 824–831. Режим доступа: <http://ej.kubagro.ru/2011/06/pdf/35.pdf>.
- Магомедов М. З., Сулейманов С. М. Структурно-функциональные изменения в органах дыхания у телят при бронхопневмонии. *Актуальные проблемы ветеринарной патологии и морфологии животных: материалы Международной научно-производственной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения профессора А. А. Авророва*. Воронеж; 2006; 154–156. eLIBRARY ID: 26621279.
- Никулин В. С. Эффективность терапевтического применения переносного автономного устройства генерации озона при лечении бронхопневмонии у животных: дис. ... канд. биол. наук. Ставрополь; 2021; 11–13. Режим доступа: http://www.stgau.ru/science/dis/avtoreferat/nikulin_2021/01.pdf.

31. Швыряева Е. Д., Калужный И. И. Диагностика, лечение и профилактика респираторных болезней у молодняка крупного рогатого скота. *Проблемы и пути развития ветеринарной и зоотехнической наук: материалы Международной научно-практической конференции обучающихся, аспирантов и молодых ученых, посвященной памяти заслуженного деятеля науки, доктора ветеринарных наук, профессора кафедры «Болезни животных и ветеринарно-санитарная экспертиза» Колесова Александра Михайловича*. Саратов: Саратовский источник; 2021; 272–275. eLIBRARY ID: 46328565.

32. Сафонов В. А., Шишкина Е. Г. Селемаг и гепатопротектор в профилактике послеродовых осложнений у коров. *Молочное и мясное скотоводство*. 2011; 5: 25–26. eLIBRARY ID: 16524461.

33. Близначева Г. Н., Сафонов В. А., Нежданов А. Г., Рецкий М. И. Антиоксидантный статус беременных и бесплодных коров. *Молочное и мясное скотоводство*. 2008; 7: 39–40. eLIBRARY ID: 11646353.

34. Shukla D., Saxena S., Jayamurthy P., Sairam M., Singh M., Jain S. K., et al. Hypoxic preconditioning with cobalt attenuates hypobaric hypoxia-induced oxidative damage in rat lungs. *High Alt. Med. Biol.* 2009; 10 (1): 57–69. DOI: 10.1089/ham.2008.1028.

35. Калужный И. И., Калинин Ю. В., Федорин А. А., Чучин В. Н., Жуков М. С. Влияние состояния агроэкосистемы на формирование стационарного неблагополучия по болезням молодняка крупного рогатого скота. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2016; 10: 35–42. eLIBRARY ID: 26693469.

36. Шапошников И. Т., Бригадиров Ю. Н., Коцарев В. Н., Моргунова В. И., Чусова Г. Г., Клементьева И. Ф., Ермолова Т. Г. Влияние нарушения обменных процессов в организме коров-матерей на заболеваемость телят желудочно-кишечными и респираторными болезнями. *Ученые записки УО ВГАБМ*. 2018; 54 (4): 137–140. Режим доступа: <https://repo.vsavm.by/bitstream/123456789/5652/1/z-2018-54-4-137-140.pdf>.

37. Черницкий А. Е., Скогорева Т. С., Сафонов В. А. Изучение особенностей микроэлементного обмена в системе «мать-плацента-плод» у купного рогатого скота. *Материалы XXIII всероссийского съезда Физиологического общества им. И. П. Павлова с международным участием*. Воронеж; 2017; 2480–2482. DOI: 10.13140/RG.2.2.32332.72329.

38. Flasshoff J. Ein praxisrelevantes Verfahren zur Frühzeitigen Differenzierung bakterieller Bronchopneumonieerreger beim Schwein mittels Bronchiallavage (BAL). *Prakt. Tierarzt*. 1996; 77: 1020–1024.

39. Пахомов Г. А. Иммуномодуляторы в коррекции иммунодефицитного состояния при бронхоневмонии у молодняка крупного рогатого скота. *Материалы Международной научно-производственной конференции по актуальным проблемам Агропромышленного комплекса*. Казань: Казанская ГАБМ; 2003; Ч. 2: 102–104.

40. Chalmers J. D., Rother C., Salih W., Ewig S. Healthcare-associated pneumonia does not accurately identify potentially resistant pathogens: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2014; 58 (3): 330–339. DOI: 10.1093/cid/cit734.

41. Мухутдинова Д. М. Сравнительная терапевтическая эффективность различных методов лечения телят, больных неспецифической бронхоневмонией: дис. ... канд. вет. наук. Казань; 2001. 167 с.

42. Альдяков А. В., Назаров С. Д. Эффективность применения антибиотиков при бронхоневмонии телят. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2017; 232 (4): 9–12. eLIBRARY ID: 30693468.

REFERENCES

- Guterbock W. M. The impact of BRD: the current dairy experience. *Anim. Health Res. Rev.* 2014; 15 (2): 130–134. DOI: 10.1017/S1466252314000140.
- Glotov A. G., Petrova O. G., Glotova T. I., Nefedchenko A. V., Tatarchuk A. T., Koteneva S. V., et al. Rasprostraneniye virusnykh respiratornykh boleznej krupnogo rogatogo skota = Spread of viral diseases of the bovine respiratory tract. *Veterinariya*. 2002; 3: 17–21. eLIBRARY ID: 22435011. (in Russ.)
- Shulga N. N., Ryabukha V. A., Shulga I. S., Dikunina S. S., Dudkina D. V. The etiology of respiratory diseases of calves in the Far East. *Veterinariya i kormlenie*. 2014; 2: 15–16. Available at: <http://vetkorm.ru/magazines/veterinariya-i-kormlenie-2-mart-aprel-2014g>. (in Russ.)
- Zimina A. P., Badova O. V. Improvement of scheme treatment bronchopneumonia in calves with free group keeping. *Molodezh' i nauka*. 2017; 3: 20. eLIBRARY ID: 29148337. (in Russ.)
- Dikunina S. S., Plavchak L. P., Shul'ga I. S., Shul'ga N. N. Technological scheme of prevention of respiratory diseases of newborn calves. *The Bulletin of KrasGAU*. 2015; 12: 198–202. eLIBRARY ID: 25054298. (in Russ.)
- Sivkov G. S., Domatskii V. N., Pavlov S. D., Pavlova R. P., Derkach S. V., Glazunova L. A., et al. Protection of cattle from pathogens. Tyumen: Vektor-Buk; 2010. 152 p. (in Russ.)
- Gagaryn E. M., Glazunov Y. V. The effectiveness of therapeutic and preventive measures in orthopedic pathologies in cattle in modern cattle-breeding complex. *Aktual'nye voprosy nauki i khozyaystva: novye vyzovy*

i resheniya: sbornik materialov LII Mezhdunarodnoi studencheskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Topical issues of science and economy: new challenges and solutions: collection of materials of the LII International Student Scientific and Practical Conference. Tyumen: Northern Trans-Ural State Agricultural University; 2018; 241–245. eLIBRARY ID: 35230431. (in Russ.)

8. Plotnikov I. V., Glazunova L. A. Analysis of disposal of cattle in Tyumen Region. *Innovatsionnye tendentsii razvitiya rossiiskoi nauki: materialy X Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsiya molodykh uchenykh, posvyashchennoi Godu ekologii i 65-letiyu Krasnoyarskogo GAU = Innovative trends in the development of Russian science: materials of the X International Scientific and Practical Conference of Young Scientists dedicated to the Year of Ecology and to the 65th anniversary of the Krasnoyarsk State Agrarian University*. 2017; 80–82. eLIBRARY ID: 29213001. (in Russ.)

9. Plotnikov I. V., Glazunova L. A. Studying the efficiency of the modes of aerosol disinfection of cattle-breeding premises in the presence of animals. *The Bulletin of KrasGAU*. 2019; 9: 91–97. eLIBRARY ID: 41172908. (in Russ.)

10. Krapovitskaya V. V., Glazunov Yu. V. Modern methods of treatment of bronchopneumonia at the enterprise of the south of the Tyumen Region. *Aktual'nye voprosy nauki i khozyaystva: novye vyzovy i resheniya: sbornik materialov LIV Studencheskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Topical issues of science and economy: new challenges and solutions: collection of materials of the LIV Student scientific and practical conference*. Tyumen: Northern Trans-Ural State Agricultural University; 2020; 322–328. eLIBRARY ID: 44432838. (in Russ.)

11. Lee S., Kim J., Kim D. Bacterial pathogens and their antimicrobial susceptibility in calves with summer pneumonia. *J. Vet. Clin.* 2017; 34 (3): 161–164. DOI: 10.17555/jvc.2017.06.34.3.161.

12. Lopez A., Martinson S. A. Respiratory System, Mediastinum, and Pleurae. In: *Pathologic Basis of Veterinary Disease*. Ed. J. F. Zachary. 6th ed. 2017; Chapter 9: 471–560. DOI: 10.1016/B978-0-323-35775-3.00009-6.

13. Kastarnova E. S., Orobets V. A. Allergenic and irritating properties of new selective drugs based on exosomal and chitosan particles. *Nauchnaya zhizn' = Scientific Life*. 2020; 15 (7): 999–1006. DOI: 10.35679/1991-9476-2020-15-7-999-1006. (in Russ.)

14. Ryazantsev S. V., Kotserovets V. I. Etiopathogenetic therapy of upper respiratory tract and ear diseases. Methodological recommendations. Saint Petersburg: Natsional'nyi registr; 2008. 100 c. (in Russ.)

15. Markova T. P. Profilaktika i lechenie respiratornykh infektsii = Prevention and treatment of respiratory infections. *Russian Medical Journal*. 2010; 18 (2): 77–81. Available at: https://www.rmj.ru/articles/infektsionnye-bolezni/Profilaktika_i_lechenie_respiratornykh_infekciy. (in Russ.)

16. Gaskell R., Bennett M. Handbook of infectious diseases of dogs and cats. Moscow: Akvarium-Print; 2015. 200 p. (in Russ.)

17. Peek S. F., Ollivett T. L., Divers T. J. Respiratory Diseases. In: *Rebhun's Diseases of Dairy Cattle*. Eds. S. F. Peek, T. J. Divers. 3rd ed. Philadelphia: Saunders; 2018; 94–167. DOI: 10.1016/B978-0-323-39055-2.00004-8.

18. Chung K. F., Caramori G., Groneberg D. A. Airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351 (14): 1459–1461; DOI: 10.1056/NEJM200409303511420.

19. Kalaeva E. A., Kalaev V. N., Chernitskiy A. E., Alhamed N., Safonov V. A. Role of microelement and hematological status of mother and fetus in the formation of predisposition to the development of bronchopneumonia in calves during the neonatal period. *Problems of Productive Animal Biology*. 2019; 2: 44–53. DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2019.2.44-53. (in Russ.)

20. Chamberlain T. Environmental aspects of pneumonia control in calf units on British dairy farms. *Livestock*. 2015; 20 (6): 306–314. DOI: 10.12968/live.2015.20.6.306.

21. Retsky M. I., Bliznetsova G. N., Nezhdanov A. G., Safonov V. A., Ventsova I. Yu. Influence of balance of active oxygen forms and nitrogen on development obstetric complications in cows. *Transactions of the Educational Establishment "Vitebsk the Order of "the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine*. 2011; 47 (2-2): 102–104. Available at: <https://repo.vsavm.by/bitstream/123456789/572/3/z-2011-47-2-2-102-104.pdf>. (in Russ.)

22. Oleynik A. Strategiya profilaktiki respiratornykh boleznei telyat = Strategy of prevention of respiratory diseases in calves. *Dairy and Beef Cattle Farming*. 2009; 6: 35–36. eLIBRARY ID: 12836643. (in Russ.)

23. Albayrak H., Yazici Z., Ozan E., Tamer C., Abd El Wahed A., Wehner S., et al. Characterisation of the first bovine parainfluenza virus 3 isolate detected in cattle in Turkey. *Vet. Sci.* 2019; 6 (2): 56. DOI: 10.3390/vetsci6020056.

24. Kukina O. V. The surgical treatment of calves sinusitis. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2015; 3: 13–18. eLIBRARY ID: 24310214. (in Russ.)

25. Bosch A. A., Biesbroek G., Trzcinski K., Sanders E. A., Bogaert D. Viral and bacterial interactions in the upper respiratory tract. *PLoS Pathog.* 2013; 9 (1): e1003057. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003057.

26. Nezhdanov A. G., Shabunin S. V., Safonov V. A., Malanych E. V. Sistemnoe reshenie problemy sokhraneniya reproduktivnogo potentsiala moloch-

nogo skota v usloviyakh promyshlennykh tekhnologii ego ekspluatatsii = Systematic approach to reproductive management in dairy cattle using industrial technologies. *Agrarnaya nauka – sel'skokhozyaistvennomu proizvodstvu Sibiri, Kazakhstana, Mongolii, Belarusi i Bolgarii: sbornik nauchnykh dokladov XX Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Agrarian science – agricultural production in Siberia, Kazakhstan, Mongolia, Belarus and Bulgaria: collection of scientific reports of the XX International Scientific and Practical Conference*. Novosibirsk: SFSCA RAS; 2017; 260–262. eLIBRARY ID: 30507682. (in Russ.)

27. Aksenova V. M., Nikulina N. B., Gurova S. V. Peculiarities of hemostasis in calves suffering from bronchopneumonia (an overview). *Perm Agrarian Journal*. 2017; 2 (18): 126–131. eLIBRARY ID: 29372562. (in Russ.)

28. Arzhanova E. N., Antipov V. A., Basova N. Y. Application of politrile and immunofane at bronchopneumonia of calves. *Scientific Journal of KubSAU*. 2011; 70: 824–831. Available at: <http://ej.kubagro.ru/2011/06/pdf/35.pdf>. (in Russ.)

29. Magomedov M. Z., Suleimanov S. M. Strukturno-funktsional'nye izmeneniya v organakh dykhaniya u telyat pri bronkhopnevmonii = Structural and functional changes in the respiratory organs of calves with bronchopneumonia. *Aktual'nye problemy veterinarnoi patologii i morfologii zhivotnykh: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-proizvodstvennoi konferentsii, posvyashchennoi 100-letiyu so dnya rozhdeniya professora A. A. Avrorova = Actual problems of veterinary pathology and morphology of animals: Proceedings of the International Scientific and Industrial Conference dedicated to the 100th anniversary of the birth of Professor A. A. Avrorov*. Voronezh; 2006; 154–156. eLIBRARY ID: 26621279. (in Russ.)

30. Nikulin V. S. Effektivnost' terapevticheskogo primeneniya perenosnogo avtonomnogo ustroystva generatsii ozona pri lechenii bronkhopnevmonii u zhivotnykh = Effectiveness of therapeutic use of a portable ozone generator in the treatment of bronchopneumonia in animals: dis. ... Cand. Biol. Sciences. Stavropol; 2021; 11–13. Available at: http://www.stgau.ru/science/dis/avtoreferat/nikulin_2021/01.pdf. (in Russ.)

31. Shvyryaeva E. D., Kalyuzhny I. I. Diagnostics, treatment and prevention of respiratory diseases in young cattle. *Problemy i puti razvitiya veterinarnoi i zootehnicheskoi nauk: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii obuchayushchikhsya, aspirantov i molodykh uchennykh, posvyashchennoi pamyati zaslužennogo deyatelya nauki, doktora veterinarnykh nauk, professora kafedry "Bolezni zhivotnykh i veterinarno-sanitarnaya ekspertiza" Kolesova Aleksandra Mikhailovicha = Problems and ways of development of veterinary and zootechnical sciences: Proceedings of the International scientific and practical conference of students, postgraduates and young scientists dedicated to the memory of the Honored Scientist, Doctor of Veterinary Sciences, Professor of the Department "Animal Diseases and Veterinary and Sanitary Examination" Kolesov Alexander Mikhailovich*. Saratov: Saratovskii istochnik; 2021; 272–275. eLIBRARY ID: 46328565. (in Russ.)

32. Safonov V., Shishkina E. Selemag and gepatoprotektory in preventive maintenance of postnatal complications at cows. *Dairy and Beef Cattle Farming*. 2011; 5: 25–26. eLIBRARY ID: 16524461. (in Russ.)

33. Bliznetsova G. N., Safonov V. A., Nezhdanov A. G., Retskii M. I. Antioksidantnyi status beremennykh i besplodnykh korov = Antioxidant sta-

tus of pregnant and infertile cows. *Dairy and Beef Cattle Farming*. 2008; 7: 39–40. eLIBRARY ID: 11646353. (in Russ.)

34. Shukla D., Saxena S., Jayamurthy P., Sairam M., Singh M., Jain S. K., et al. Hypoxic preconditioning with cobalt attenuates hypobaric hypoxia-induced oxidative damage in rat lungs. *High Alt. Med. Biol.* 2009; 10 (1): 57–69. DOI: 10.1089/ham.2008.1028.

35. Kalyuzhny I. I., Kalinkina Yu. V., Fedorin A. A., Chuchin V. N., Zhukov M. S. Impact of agroecosystem state on the formation of stationary disease problems in young cattle. *Veterinary, animal science and biotechnology*. 2016; 10: 35–42. eLIBRARY ID: 26693469. (in Russ.)

36. Shaposhnikov I. T., Brigadirov Yu. N., Kotsarev V. N., Morgunova V. I., Chusov G. G., Klementyeva I. F., Ermolova T. G. The influence of metabolic processes in the organism of cows on the incidence of calves with gastrointestinal and respiratory diseases. *Transactions of the Educational Establishment "Vitebsk the Order of the Badge of Honor" State Academy of Veterinary Medicine*. 2018; 54 (4): 137–140. Available at: <https://repo.vsam.by/bitstream/123456789/5652/1/z-2018-54-4-137-140.pdf>. (in Russ.)

37. Chernitskiy A. E., Skogoreva T. S., Safonov V. A. Study of peculiarities of trace element metabolism in "mother-placenta-fetus" system in cattle. *Materialy XXIII vserossiiskogo s'ezda Fiziologicheskogo obshchestva im. I. P. Pavlova s mezhdunarodnym uchastiem = Proceedings of the XXIII Russian Pavlov Physiological Society with international participation*. Voronezh; 2017; 2480–2482. DOI: 10.13140/RG.2.2.32332.72329. (in Russ.)

38. Flasshoff J. Ein praxisrelevantes Verfahren zur Frühzeitigen Differenzierung bakterieller Bronchopneumonieerreger beim Schwein mittels Bronchiallavage (BAL). *Prakt. Tierarzt*. 1996; 77: 1020–1024. (in German)

39. Pakhomov G. A. Immunomodulatory v korrektsii immunodefitsitnogo sostoyaniya pri bronkhopnevmonii u molodnyaka krupnogo rogatogo skota = Immunomodulators in the treatment of immunodeficiency in young cattle with bronchopneumonia. *Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-proizvodstvennoi konferentsii po aktual'nym problemam Agropromyshlennogo kompleksa = Proceedings of the International Scientific and Production Conference on topical issues of the Agro-industrial complex*. Kazan: Kazan SAVM; 2003; Part 2: 102–104. (in Russ.)

40. Chalmers J. D., Rother C., Salih W., Ewig S. Healthcare-associated pneumonia does not accurately identify potentially resistant pathogens: a systematic review and meta-analysis. *Clin. Infect. Dis.* 2014; 58 (3): 330–339. DOI: 10.1093/cid/cit734.

41. Mukhutdinova D. M. Sravnitel'naya terapevticheskaya effektivnost' razlichnykh metodov lecheniya telyat, bol'nykh nespetsificheskoi bronkhopnevmoniei = Comparative efficiency of some schemes of calf bronchopneumonia treatment: dis. ... Candidate of Veterinary Sciences. Kazan; 2001. 167 p. (in Russ.)

42. Aldyakov A. V., Nazarov S. D. Efficiency application of antibiotics in bronchopneumonia of calves. *Scientific notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2017; 232 (4): 9–12. eLIBRARY ID: 30693468. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 07.06.2022

Поступила после рецензирования / Revised 26.07.2022

Принята к публикации / Accepted 03.08.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ермилова Татьяна Сергеевна, аспирант, ассистент, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», г. Астрахань, Россия.

Самбунова Маргарита Александровна, научный сотрудник, ООО «БИОС», г. Москва, Россия.

Кашарная Ольга Владиславовна, аспирант, лаборант, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», г. Астрахань, Россия.

Салимзаде Эмиль Афлатун оглы, аспирант, ФГБОУ ВО «Астраханский государственный университет», г. Астрахань, Россия.

Tatyana S. Ermilova, Post-Graduate Student, Assistant, FSBEI HE "Astrakhan State University", Astrakhan, Russia.

Margarita A. Samburova, Researcher, "BIOS" LLC, Moscow, Russia.

Olga V. Kasharnaya, Post-Graduate Student, Laboratory Assistant, FSBEI HE "Astrakhan State University", Astrakhan, Russia.

Emil Aflatun oglu Salimzade, Post-Graduate Student, FSBEI HE "Astrakhan State University", Astrakhan, Russia.



Оценка эпизоотической ситуации по инвазионным заболеваниям в оленеводческих хозяйствах Мурманской области

Э. В. Фирсова¹, Р. А. Почепко²

ФГБНУ «Мурманская государственная сельскохозяйственная опытная станция» (ФГБНУ Мурманская ГСХОС), пос. Молочный, Мурманская обл., Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-7688-6528>, AuthorID 620603, e-mail: research-station@yandex.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-6684-8192>, AuthorID 646194, e-mail: research-station@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Инвазионные заболевания наносят значительный ущерб оленеводческим хозяйствам за счет снижения продуктивности животных и ухудшения качества оленеводческой продукции. Особое место среди них занимают гельминтозы. Знание эпизоотической обстановки будет способствовать успешной организации системы терапевтических и профилактических мероприятий по защите поголовья домашних северных оленей от паразитарных заболеваний. В статье представлены результаты оценки эпизоотической ситуации по инвазионным заболеваниям в оленеводческих хозяйствах Мурманской области за период с 2018 по 2021 г. Исследования были проведены в двух крупных оленеводческих хозяйствах – СХПК «Тундра» и СХПК ОПХ МНС «Оленевод» во время планового убоя северных оленей. Всего было исследовано 4048 туш оленей всех возрастов и 199 проб фекалий. Ретроспективный анализ данных ветеринарной службы показал, что из гельминтозов в оленеводческих стадах Мурманской области в основном регистрируется цистицеркоз (*Cysticercosis*). Процент зараженности животных цестодами варьирует по годам от 0,16 до 0,83%, при этом наблюдается уменьшение экстенсивности инвазии северного оленя. Распространенность эдемагеноза по разным половозрастным группам составляла от 25 до 100%. Показано, что олени всех возрастов болеют парамфистоматозом (12,50–15,15%), сетариозом (5,36–6,06%), нематодиреллезом (3,0–6,0%), диктиокаулезом (3,03–3,57%), протостронгилезом (3,0%) и в меньшей степени эхинококкозом (0,04%). Гельминтами рода *Taenia* класса *Cestoda*, вызывающими цистицеркоз, заражается преимущественно молодняк, экстенсивность инвазии составляет 0,50–0,81%. Таким образом, в структуре заболеваемости гельминтозами доминирующее положение занимают эдемагеноз и парамфистоматоз, регистрируемые во всех оленеводческих стадах. Установлено, что инвазионные болезни протекают в форме микст-инвазий, чаще всего в следующих ассоциациях: эдемагеноз + протостронгилез, эдемагеноз + парамфистоматоз + сетариоз, эдемагеноз + парамфистоматоз + цистицеркоз (финноз), эдемагеноз + диктиокаулез + протостронгилез.

Ключевые слова: домашний северный олень, эпизоотическая ситуация, инвазионные болезни, гельминтозы

Благодарности: Выражаем благодарность сотрудникам ГОБВУ «Мурманская областная станция по борьбе с болезнями животных» и его руководителю Костюк Наталии Александровне за оказание всесторонней помощи при проведении исследований.

Для цитирования: Фирсова Э. В., Почепко Р. А. Оценка эпизоотической ситуации по инвазионным заболеваниям в оленеводческих хозяйствах Мурманской области. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 210–215. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-210-215.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Фирсова Эмилия Викторовна, кандидат сельскохозяйственных наук, заместитель директора по научной работе ФГБНУ Мурманская ГСХОС, 184365, Россия, Мурманская обл., Кольский р-н, пос. Молочный, ул. Совхозная, 1, e-mail: research-station@yandex.ru.

Assessment of the epizootic situation by invasive diseases in reindeer farms in the Murmansk Oblast

E. V. Firsova¹, R. A. Pochepko²

FSBSI "Murmansk State Agricultural Experimental Station", Molochny, Murmansk Oblast, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-7688-6528>, AuthorID 620603, e-mail: research-station@yandex.ru

² <https://orcid.org/0000-0001-6684-8192>, AuthorID 646194, e-mail: research-station@yandex.ru

SUMMARY

Reindeer invasive diseases cause significant damage to reindeer farms due to reduction in animal productivity and deterioration in quality of reindeer products. Helminthiasis take a special place among them. Knowledge of the epizootic situation will contribute to the successful organization of a system of therapeutic and preventive measures to protect the domestic reindeer stock from helminthiasis. The article presents assessment results for the invasive disease epizootic situation in reindeer farms in the Murmansk Oblast in 2018–2021. The research was carried out in two large reindeer farms – APC "Tundra" and APC HFE SEN "Olenevod" during the planned slaughter of reindeer. A total of 4,048 deer carcasses of all ages were examined and 199 samples of faeces were tested. A retrospective analysis of the veterinary service's data showed that, among helminthiasis, mainly cysticercosis is recorded in reindeer herds of the Murmansk Oblast. The prevalence of cestodes

infection varies from 0.16 to 0.83% depending on the year, however the extensiveness of cysticercosis invasion of reindeer is decreasing. The prevalence of oedemagenosis varied in different age and sex groups from 25 to 100%. It was found that reindeer of all ages were infested with paramphistomiasis (12.50–15.15%), setariasis (5.36–6.06%), nematodiasis (3.0–6.0%), dictyocaulosis (3.03–3.57%), protostrongylosis (3.0%) and, to the least extent, echinococcosis (0.04%). Helminths of the genus *Taenia*, class *Cestoda*, that cause cysticercosis, mainly infest young animals – extensiveness of invasion (EI) is 0.50–0.81%. Thus, oedemagenosis and paramphistomiasis prevail in the structure of helminth infections; they are recorded in all reindeer herds. It was established that invasive diseases occur in the form of mixed invasions. Mixed invasions most often occur in the following associations: oedemagenosis + protostrongylosis, oedemagenosis + paramphistomiasis + setariasis, oedemagenosis + paramphistomiasis + cysticercosis (finniosis), oedemagenosis + dictyocaulosis + protostrongylosis.

Keywords: domestic reindeer, epizootic situation, invasive diseases, helminthiasis

Acknowledgments: We would like to express our gratitude to the staff of the Murmansk Oblast Station for Animal Disease Control and its Head Natalia A. Kostyuk for providing comprehensive assistance in conducting the research.

For citation: Firsova E. V., Pochevko R. A. Assessment of the epizootic situation by invasive diseases in reindeer farms in the Murmansk Oblast. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 210–215. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-210-215.

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

For correspondence: Emilia V. Firsova, Candidate of Agricultural Science, Deputy Director for Research, FSBSI "Murmansk State Agricultural Experimental Station", 184365, Russia, Murmansk Oblast, Kolsky District, Molochny, ul. Sovkhoznoy, 1, e-mail: research-station@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Оленеводство является традиционным древнейшим занятием большинства народов Крайнего Севера. Олень – ведущий компонент экосистемы районов Севера, и от рационального его использования во многом зависят благосостояние, уровень экономического и социального развития коренных народностей. Сохранение и дальнейшее развитие домашнего оленеводства, повышение его продуктивности и рентабельности невозможны без надлежащей организации и проведения эффективных мер, направленных против инфекционных и инвазионных заболеваний животных, которые могут причинить значительный ущерб оленеводческим хозяйствам.

Основными болезнями, наносящими значительный экономический ущерб северному оленеводству, являются некробактериоз, эдемагеноз, цефеномиоз и гельминтозы. Данные инфекции часто регистрируются в оленеводческих стадах, снижают хозяйственно полезные качества животных [1–8] и нередко вызывают их гибель [9–11]. Отдельно следует отметить гельминтозы.

Северные олени являются жвачными животными, но ввиду скудной кормовой базы в местах обитания у них выработались несвойственные жвачным пищевые предпочтения. Они могут употреблять в качестве пищи отпавшие рога своих сородичей и лосей, солоноватую почву, птенцов, птичьи яйца и экскременты, а также леммингов. Также были зафиксированы случаи питья из луж с одновременным мочеиспусканием и дефекацией. Все это наряду с другими факторами увеличивает вероятность инвазирования оленей гельминтами [12].

В настоящее время имеются только общие сведения о разнообразии паразитов у северных оленей [10, 13–21], а подробная информация о паразитарных инфекциях ограничена. Полные данные о распространенности и разнообразии паразитов будут способствовать более целенаправленной борьбе с инвазиями.

Болезни северных оленей, вызываемые гельминтами, имеют широкое распространение в оленеводческих стадах как в Российской Федерации [15–17, 22, 23],

так и странах Скандинавии (Норвегия, Финляндия) [24, 25].

Так, в Республике Саха (Якутия) процент зараженности оленей сета́риями (*Setaria cervi*) составил 32,8% [15], цистицерками тарандными (*Cysticercus tarandi*) – 13,3%, цистицерками паренхиматозными (*Cysticercus parenchimatosa*) – 10%, парамфистомами (*Paramphistomum cervi*) – 10%, эхинококковыми цистами (*Echinococcus granulosus*) – 10% из числа исследованных особей. Личинками носоглоточных оводов (*Cephenomyia trompe*) поражено 36,6% поголовья оленей, установлена 100%-я зараженность личинками подкожного овода (*Oedemagena tarandi*, эдемагеноз) [16].

Инвазированность *Dictyocaulus eckerti* (диктиокаулез) диких северных оленей составила 100%, домашних северных оленей – 45,5% у взрослых животных и 100% у телят текущего года рождения [22]. Для сравнения: в Норвегии распространенность диктиокаулеза у диких северных оленей варьировала в разные годы от 28 до 80% [24].

У оленей, выпасающихся на территории Ханты-Мансийского автономного округа – Югры, процент зараженности *Oedemagena tarandi* значительно меньше, чем в Республике Саха (Якутия). Экстенсивность эдемагенозной инвазии варьировала от 0,71% в 2012 г. до 10,37% в 2015 г. [17].

Эпизоотическая обстановка по гельминтозам в условиях ведения животноводства Мурманской области остается практически неизученной. До настоящего времени имеется мало сведений и научных работ в области эпизоотологии, изучения эпизоотического процесса, а также информации о клинических признаках, лечении и профилактике инвазионных болезней северных оленей в регионе.

Своевременное проведение эпизоотологического мониторинга, разработка и внедрение профилактических, карантинных и оздоровительных мероприятий в оленеводческих хозяйствах являются необходимыми условиями контроля болезней, вызываемых гельминтами [14].

Для успешной организации системы терапевтических и профилактических мероприятий по защите поголовья домашних северных оленей от паразитарных заболеваний необходимы знания особенностей биологии возбудителей и их патогенного влияния на организм хозяина, а также сведения об эпизоотической обстановке [26].

Поэтому была поставлена задача оценить эпизоотическую ситуацию по инвазионным заболеваниям

в оленеводческих хозяйствах Мурманской области для разработки эффективной стратегии и тактики контроля, профилактики и искоренения гельминтозов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования по распространению инвазионных заболеваний и зараженности северных оленей гельминтами проводились в период с 2018 по 2021 г. в двух крупных оленеводческих хозяйствах Мурманской области – СХПК «Тундра» и СХПК ОПХ МНС «Оленевод» – во время планового убоя животных на убойных пунктах с. Ловозеро. Всего было исследовано 4048 туш оленей всех возрастов (2812 – из СХПК «Тундра» и 1236 – из СХПК ОПХ МНС «Оленевод») и 199 проб фекалий.

При ветеринарно-санитарной экспертизе проводили осмотр рубца, сетки и сычуга северных оленей. Распространение гельминтозов изучали методами прижизненной и посмертной диагностики, учитывая эпизоотологические данные. При этом использовали копроскопические (овоскопия, лярвоскопия, гельминтоскопия), флотационные (по Фюллеборну) и седиментационные (последовательного промывания) методы исследования, также проводили неполное гельминтологическое вскрытие животных и осмотр отдельных органов по методу К. И. Скрябина [27].

Видовое разнообразие гельминтофауны определяли морфологически при микроскопии макро- и микропрепаратов, используя определитель гельминтов оленей [28].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам проведенной ветеринарно-санитарной экспертизы паренхиматозных органов и желудочно-кишечного тракта из 2812 исследованных туш оленей, принадлежащих СХПК «Тундра», и 1236 туш, поступивших в убойный пункт из СХПК ОПХ МНС «Оленевод», выявлена зараженность гельминтами рода *Taenia* (*Taenia hydatigena*) класса *Cestoda* (преимущественно молодняка), экстенсивность инвазии (ЭИ) составила 0,5 и 0,81% соответственно. Инфицированность возбудителем эхинококкоза (*Echinococcus canadensis*) выявлена только в СХПК «Тундра», при этом ЭИ была незначительной и составила 0,04% (табл. 1).

Из общего числа исследованных туш оленей в 56 из СХПК «Тундра» и 33 из СХПК ОПХ МНС «Оленевод» были обнаружены гельминты рода *Paramphistomum* (*Paramphistomum cervi*) класса *Trematoda* (инвазированы оленей всех возрастов) – ЭИ 12,50 и 15,15% соответственно, возбудители сетариоза (*Setaria nematoda*) класса *Nematoda* – ЭИ 5,36 и 6,06% – и диктиокаулеза (*Dictyocaulus eckerti* класса *Nematoda*) – ЭИ 3,57 и 3,03% соответственно.

Таким образом, при исследовании продуктов убоя установлено, что экстенсивность инвазии домашних северных оленей в оленеводческих хозяйствах Мурманской области варьирует от 0,04 до 15,15%. Наиболее распространенными паразитарными заболеваниями являются парамфистоматоз (15,15%), сетариоз (6,06%), диктиокаулез (3,57%), в меньшей степени распространены цистицеркоз (0,81%) и эхинококкоз (0,04%).

По результатам копроскопических (овоскопии, лярвоскопии, гельминтоскопии), комбинированных седиментационно-флотационных исследований и проведения последовательных промываний определена экстенсивность (ЭИ) и интенсивность (ИИ) гельмин-

Таблица 1

Экстенсивность инвазии при гельминтозах домашних северных оленей в оленеводческих хозяйствах Мурманской области

Table 1

Extensiveness of helminthiasis infestation of domestic reindeer in reindeer farms of the Murmansk Oblast

Хозяйство	Количество исследований, туш	Гельминтоз	Количество пораженных туш	Экстенсивность инвазии, %
СХПК «Тундра»	2812	цистицеркоз	14	0,50
		эхинококкоз	1	0,04
	56	парамфистоматоз	7	12,50
		сетариоз	3	5,36
		диктиокаулез	2	3,57
СХПК ОПХ МНС «Оленевод»	1236	цистицеркоз	10	0,81
		эхинококкоз	–	–
	33	парамфистоматоз	5	15,15
		сетариоз	2	6,06
		диктиокаулез	1	3,03

Таблица 2

Экстенсивность и интенсивность гельминтозной инвазии у северных оленей разных половозрастных групп

Table 2

Extensiveness and intensity of helminthic invasion in reindeer of different sex and age groups

Хозяйство	Половозрастная группа	Количество проб	ИИ, яиц/г фекалий	ЭИ, %		
				Нематодиреллез	Протостронгилез	Парамфистоматоз
СХПК «Тундра»	бычки до 1 года	14	3–4	3	–	–
	хоры	2	4–5	3	–	–
	важенки	11	3–4	6	–	–
	телки до 1 года	104	–	–	–	–
СХПК ОПХ МНС «Оленевод»	бычки до 1 года	50	3–5	–	3	–
	важенки	6	–	–	–	–
	телки до 1 года	5	–	–	–	–

Таблица 3

Ретроспективный анализ распространения финноза у северных оленей в Мурманской области

Table 3

Retrospective analysis of cysticercosis distribution in reindeer in the Murmansk Oblast

Год	СХПК «Тундра»			СХПК ОПХ МНС «Оленевод»			В среднем по хозяйствам		
	всего забито	выявлен финноз	ЭИ, %	всего забито	выявлен финноз	ЭИ, %	всего забито	выявлен финноз	ЭИ, %
2018	3883	15	0,39	1520	1	0,07	5403	16	0,30
2019	2995	7	0,23	1902	1	0,05	4897	8	0,16
2020	2816	7	0,25	1735	31	1,79	4551	38	0,83
2021	3381	5	0,15	1338	8	0,60	4719	13	0,28

тозной инвазии у северных оленей разных половозрастных групп (табл. 2). Выявлено, что ЭИ домашних северных оленей при нематодиреллезе составила от 3 до 6%, при протостронгилезе – 3%, интенсивность инвазии – от 3 до 5 яиц/г фекалий.

Ретроспективный анализ, проведенный по данным отчетности ветеринарной службы Ловозерской ветеринарной станции по борьбе с болезнями животных за период с 2018 по 2021 г., показал, что из гельминтозов у северных оленей Мурманской области в основном регистрируется цистицеркоз (*Cysticercosis*), или финноз (табл. 3).

Анализируя результаты ветеринарно-санитарной экспертизы мяса по хозяйствам, можно отметить, что в 2018 г. наибольшая ЭИ при финнозе (0,39%) была в СХПК «Тундра». В СХПК ОПХ МНС «Оленевод» максимальный процент инвазии наблюдали в 2020 г. – 1,79%. В среднем по хозяйствам с 2018 по 2021 г. процент пораженности цестодами относительно невысок и варьирует от 0,16 до 0,83%. В 2021 г. наблюдается уменьшение ЭИ, что связано с использованием лекарственных препаратов на основе ивермектина и повышением эффективности обработки северных оленей против гельминтов и ветеринарно-санитарного контроля.

На следующем этапе изучали распространенность подкожноооводовой инвазии северных оленей Мурманской области по половозрастным группам (табл. 4).

Анализ полученных данных показывает, что наибольшая инвазированность домашних северных оленей наблюдается в СХПК ОПХ МНС «Оленевод», где ЭИ составила 100% по всем половозрастным группам животных. В СХПК «Тундра» ЭИ значительно ниже, но тем не менее довольно высока, особенно в группах быков-производителей (71,4%) и телят (50,7%). В среднем экстенсивность эдемагенозной инвазии по всему исследованному поголовью северных оленей обоих хозяйств составила 70,3%.

Такая высокая инвазированность личинками *Oedemagena tarandi* обусловлена тем, что обработкой против подкожного овода охвачено не все поголовье (до 50%) домашних северных оленей, а также нарушаются сроки обработки.

Анализ результатов ветеринарно-санитарной экспертизы и проведенных комбинированным методом исследований показали, что выявленные инвазии у северных оленей Мурманской области, как правило, протекают в форме микст-инвазий в различных ассоциациях, наиболее частыми при этом являются: эдемагеноз +

Таблица 4

Инвазированность личинками подкожного овода оленей в хозяйствах Мурманской области

Table 4

Infestation of reindeer by hypodermic gadfly larvae in reindeer farms in the Murmansk Oblast

Половозрастная группа	СХПК ОПХ МНС «Оленевод»					СХПК «Тундра»				
	Осмотрено шкур, шт.	Из них поражено личинками, шт.	Всего учтено личинок, шт.	ИИ в среднем на голову, шт.	ЭИ, %	Осмотрено шкур, шт.	Из них поражено личинками, шт.	Всего учтено личинок, шт.	ИИ в среднем на голову, шт.	ЭИ, %
Хоры	43	43	3736	86,9	100	7	5	451	90,2	71,4
Важенки	6	6	475	79,2	100	4	1	87	87,0	25,0
Телята	5	5	397	79,4	100	73	37	3005	81,2	50,7
Итого	54	54	4608	85,3	100	84	43	3543	82,4	51,2

протостронгилез, эдемагеноз + парамфистоматоз + селариоз, эдемагеноз + парамфистоматоз + цистицеркоз (финноз), эдемагеноз + диктиокаулез + протостронгилез. Аналогичные данные получены учеными-исследователями из Финляндии – более половины (53,3%) обследованного поголовья оленей имели смешанные паразитарные инфекции [25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенных исследований показали, что во всех обследованных хозяйствах Мурманской области регистрируются инвазионные болезни северных оленей, вызванные гельминтами – представителями трех классов: трематод, нематод и цестод.

Наиболее распространенными паразитарными заболеваниями являются парамфистоматоз (12,5–15,15%), селариоз (5,36–6,06%), нематодиреллез (3,0–6,0%), диктиокаулез (3,03–3,57%), протостронгилез (3,0%), реже встречается эхинококкоз (0,04%). Гельминтами рода *Taenia* класса *Cestoda*, вызывающими цистицеркоз, заражается преимущественно молодежь, ЭИ составляет 0,50–0,81%. Распространенность

эдемагеноза варьировала по разным половозрастным группам животных от 25 до 100%. Эдемагеноз и парамфистоматоз занимают доминирующее положение и регистрируется во всех стадах.

Ретроспективный анализ, проведенный по материалам ветеринарной отчетности при выполнении ветеринарно-санитарной экспертизы оленины во время планового убоя животных, показал, что из гельминтозов в оленеводческих стадах Мурманской области в основном регистрируется цистицеркоз (финноз).

Установлено, что инвазионные болезни протекают в форме микст-инвазий. Чаще всего регистрируются следующие ассоциации: эдемагеноз + протостронгилез, эдемагеноз + парамфистоматоз + сетариоз, эдемагеноз + парамфистоматоз + цистицеркоз (финноз), эдемагеноз + диктиокаулез + протостронгилез.

Проведенные исследования позволили оценить эпизоотическую ситуацию по инвазионным заболеваниям в оленеводческих хозяйствах Мурманской области. Полученные сведения будут способствовать успешной организации системы терапевтических и профилактических мероприятий по защите поголовья домашних северных оленей от гельминтозов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лайшев К. А., Забродин В. А., Прокудин А. В., Самандас А. М. Оценка эпизоотической ситуации в популяциях диких северных оленей Арктической зоны РФ (обзор литературы). *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2015; 4 (28): 38–44. eLIBRARY ID: 25005102.
2. Романенко Т. М., Лайшев К. А., Забродин В. А., Самандас А. М. Современные методы борьбы с основными паразитами северных оленей. В кн.: *Современные проблемы диагностики, лечения и профилактики инфекционных болезней животных и птиц*. Екатеринбург: Уральское издательство; 2010; 125–131. eLIBRARY ID: 24379427.
3. Луницин В. Г., Мерлич П. Н. Распространение паразитов у маралов, новые средства их профилактики и терапии. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2011; 5–6: 86–91. eLIBRARY ID: 16442024.
4. Рудковский И. И., Буякова Т. А. Гельминтозы диких северных оленей на Таймыре. В кн.: *Вопросы экологии и традиционного природопользования на Крайнем Севере*. Новосибирск: Редакционно-полиграфическое объединение СО РАСХН; 2002; 247–257. eLIBRARY ID: 25571067.
5. Сибен А. Н., Гавричкин А. А., Домацкий В. Н. Паразито-хозяйственные отношения в условиях субарктики Ямало-Ненецкого автономного округа (на примере гельминтов северного оленя). *Актуальные проблемы гео-криологии: сборник докладов расширенного заседания Научного совета по криологии Земли РАН*. М.; 2018; 2: 301–304. eLIBRARY ID: 43175978.
6. Казановский Е. С., Карабанов В. П., Клебенсон К. А. Ветеринарная наука на службе северного оленеводства. *Актуальные вопросы развития сельского хозяйства: материалы Круглого стола с международным участием; Научного совещания; Межрегиональной научно-практической конференции; V Межрегионального интеллектуального форума*. Сыктывкар; 2021; 53–58. DOI: 10.19110/93206-022-9.
7. Лещёв М. В., Сивков Г. С. Анализ гельминтологической ситуации в оленеводческих хозяйствах Ямало-Ненецкого автономного округа. *АПК в XXI веке: действительность и перспективы: материалы региональной научной конференции молодых ученых*. Тюмень; 2005; 186–189. eLIBRARY ID: 25453743.
8. Коколова Л. М., Григорьев И. И., Румянцев Т. Д. Гельминты и гельминтозы домашних северных оленей в горно-таежной зоне Якутии. *Научный поиск в современном мире: сборник материалов 10-й международной научно-практической конференции*. Махачкала; 2015; 137–139. eLIBRARY ID: 24242573.
9. Исаков С. И. Гельминты и гельминтозы северных оленей Якутии и меры борьбы с ними. Якутск; 1992. 36 с.
10. Почепко Р. А. Распространение и степень поражения северных оленей парамфистоматозом в Мурманской области. *Современное состояние и перспективы продовольственного обеспечения населения Севера РФ и его научного сопровождения: материалы совместного заседания СЗРПЦ и Комитета АПК Мурманской области*. Мурманск; 2014; 92–95. eLIBRARY ID: 25412926.
11. Коколова Л. М., Сафронов М. Г., Платонов Т. А., Захаров Е. С., Верховцева Л. А., Гаврильева Л. Ю. Эпизоотологическая ситуация по зоонозам и паразитарным болезням животных и рыб в Якутии. *Вестник СВФУ*. 2012; 9 (3): 86–90. eLIBRARY ID: 20340425.

12. Логинова О. А., Белова Л. М. Пищевые привычки северных оленей, способствующие их инвазированию гельминтами. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями*. 2019; 20: 318–322. DOI: 10.31016/978-5-9902340-8-6.2019.20.318-322.
13. Большакова В. А., Григорьев И. И. Гельминтозы молодняка домашних северных оленей в горно-таежной зоне Якутии. *Иппология и ветеринария*. 2019; 1 (31): 87–90. Режим доступа: [https://noironline.ru/files/ippo/2019/ippo_1\(31\)2019.pdf](https://noironline.ru/files/ippo/2019/ippo_1(31)2019.pdf).
14. Южаков А. А., Романенко Т. М., Лайшев К. А. Новые знания, методы и модели в разведении, экологии и эпизоотологии северных оленей. Санкт-Петербург; Пушкин: СЗЦППО; 2018. 72 с. eLIBRARY ID: 35507223.
15. Коколова Л. М., Гаврильева Л. Ю., Степанова С. М. Сетариоз северных оленей в Якутии. *Тенденции развития науки и образования*. 2018; 43 (7): 42–44. DOI: 10.18411/lj-10-2018-163.
16. Коколова Л. М., Гаврильева Л. Ю., Степанова С. М., Дулова С. В., Сивцева Е. В. Паразиты и паразитарные болезни у домашних северных оленей Якутии. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями*. 2021; 22: 254–260. DOI: 10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.254-260.
17. Сибен А. Н., Кляцкий А. В. Ретроспективный анализ распространения эдемагеноза северных оленей на территории ХМАО-Югра (2009–2017 гг.). *Эпоха науки*. 2018; 16: 348–351. DOI: 10.24411/2409-3203-2018-11683.
18. Коколова Л. М., Исаков С. И., Платонов Т. А., Гаврильева Л. Ю., Григорьев И. И., Иванова З. К., Степанова С. М. Инвазионные болезни сельскохозяйственных животных Якутии. *Российский паразитологический журнал*. 2015; 1: 46–52. Режим доступа: <https://vniigis.elpub.ru/jour/article/view/133/136>.
19. Шалаева Н. М. Экологические особенности гельминтофауны дикого северного оленя (*Rangifer tarandus* L.) Западного Таймыра. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями (материалы докладов международной научной конференции)*. 2017; 18: 533–534. eLIBRARY ID: 30283788.
20. Григорьев И. И. Гельминты и гельминтозы домашних оленей горно-таежной зоны Якутии. *Вестник КрасГАУ*. 2015; 1 (100): 162–166. Режим доступа: <http://www.kgau.ru/vestnik/content/2015/1.pdf>.
21. Логинова О. А., Белова Л. М. Гельминтофауна молодняка северных оленей (*Rangifer tarandus*) в Ленинградской области. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями*. 2020; 21: 199–202. DOI: 10.31016/978-5-9902341-5-4.2020.21.199-202.
22. Коколова Л. М., Григорьев И. И. Диктиокаулез домашних и диких животных Якутии. *Проблемы современной науки и образования*. 2014; 3 (21): 123–124. eLIBRARY ID: 21998304.
23. Лещев М. В., Бойкова Т. Г., Корниенко А. П. Распространение цестодозов у северных оленей в Ямало-Ненецком автономном округе. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2007; 6 (174): 121–122. eLIBRARY ID: 9497395.
24. Handeland K., Davidson R. K., Viljgrein H., Mossing A., Meisingset E., Heum M., Isaksen K. *Elaphostrongylus* and *Dictyocaulus* infections in Norwegian wild reindeer and red deer populations in relation to summer pasture altitude and climate. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 2019; 10: 188–195. DOI: 10.1016/j.ijppaw.2019.09.003.
25. Jokelainen P., Moroni B., Hoberg E., Oksanen A., Laaksonen S. Gastrointestinal parasites in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) calves from Fennoscandia: An epidemiological study. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports*. 2019; 16: 100277. DOI: 10.1016/j.vprsr.2019.100277.
26. Забродин В. А., Лайшев К. А., Димов С. К., Самандас А. М., Прокудин А. В. Рациональные модели контроля эпизоотических процессов актуальных болезней в популяциях домашних северных оленей в условиях Крайнего Севера. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. 2011; 2: 20–25. Режим доступа: <https://spbgvu.ru/wp-content/uploads/2017/11/Вопросы-нормативно-правового-регулирования-в-ветеринарии-№2-2011.pdf>.
27. Скрябин К. И. Метод полных гельминтологических вскрытий позвоночных, включая человека. М.: Издательство МГУ; 1928. 45 с.
28. Прядко Э. И. Гельминты оленей. Алма-Ата: Наука КазССР; 1976. 224 с.

REFERENCES

1. Layshev K. A., Zabrodin V. A., Prokudin A. V., Samandas A. M. The evaluation of the epizootic situation in the populations of wild reindeer of the Arctic zone of the Russian Federation (literature review). *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2015; 4 (28): 38–44. eLIBRARY ID: 25005102. (in Russ.)
2. Romanenko T. M., Layshev K. A., Zabrodin V. A., Samandas A. M. Sovremennyye metody bor'by s osnovnyimi parazitozami severnykh oleney = Current methods of controlling major parasitoses of reindeer. In: *Sovremennyye problemy diagnostiki, lecheniya i profilaktiki infektsionnykh boleznei zhivotnykh i ptits = Current aspects of diagnosis, treatment and prevention of animal and avian infectious diseases*. Yekaterinburg: Ural'skoe izdatel'stvo; 2010; 125–131. eLIBRARY ID: 24379427. (in Russ.)

3. Lunitsyn V. G., Merlich P. N. Spread of parasitoses in marals and new prophylactic and therapeutic agents. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2011; 5–6: 86–91. eLIBRARY ID: 16442024. (in Russ.)
4. Rudkovskii I. I., Buryakova T. A. Gel'mintozy dikikh severnykh oleney na Taymyre = Helminthiasis of wild reindeer in Taimyr. In: *Voprosy ekologii i traditsionnogo prirodopol'zovaniya na Krainem Severe = Issues of ecology and traditional nature management in the Far North*. Novosibirsk: Redaktsionno-poligraficheskoe ob'edinenie SO RASKhN; 2002; 247–257. eLIBRARY ID: 25571067. (in Russ.)
5. Siben A. N., Gavrichkin A. A., Domatskii V. N. Parazito-khozyainnye ot-nosheniya v usloviyakh subarktiki Yamalo-Nenetskogo avtonomnogo okru-ga (na primere gel'mintov severnogo olenya) = Host-parasite interactions in the subarctic conditions of the Yamal-Nenets Autonomous Okrug (using reindeer helminthes as an example). *Aktual'nye problemy geokriologii: sbornik dokladov rasshirennoho zasedaniya Nauchnogo soveta po kriologii Zemli RAN = Current issues of geocryology: collection of reports of the extended meeting of the Scientific Council on Earth Cryology of the Russian Academy of Science*. Moscow; 2018; 2: 301–304. eLIBRARY ID: 43175978. (in Russ.)
6. Kazanovsky E. S., Karabanov V. P., Klebenson K. A. Veterinarnaya nauka na sluzhbe severnogo olenevodstva = Veterinary science in the service of reindeer breeding. *Aktual'nye voprosy razvitiya sel'skogo khozyaistva: materi-aly Kruglogo stola s mezhdunarodnym uchastiem; Nauchnogo soveshchaniya; Mezhhregional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii; V Mezhhregional'no-go intellektual'nogo foruma = Topical issues of agricultural development: proceedings of the Round Table with international participation; Scientific meeting; Interregional scientific and practical conference; V Interregional In-telektual Forum*. Syktyvkar; 2021; 53–58. DOI: 10.19110/93206-022-9.
7. Leschev M. V., Sivkov G. S. Analiz gel'mintologicheskoi situatsii v ole-nevodcheskikh khozyaistvakh Yamalo-Nenetskogo avtonomnogo okru-ga = Analysis of the helminthological situation in reindeer farms of the Yamalo-Nenets Autonomous Okrug. *APK v XXI veke: deistvitel'nost' i pers-pektivy: materialy regional'noi nauchnoi konferentsii molodykh uchennykh = Agro-industrial complex in the XXI century: reality and prospects: proceedings of the regional scientific conference of early career scientists*. Tyumen; 2005; 186–189. eLIBRARY ID: 25453743. (in Russ.)
8. Kokolova L. M., Grigoriev I. I., Rummyantseva T. D. Gel'minty i gel'mintozy domashnikh severnykh oleney v gorno-taehznoi zone Yakutii = Helminths and helminthiasis of domestic reindeer in the mountain taiga zone of Yakutia. *Nauchnyi poisk v sovremennoy mire: sbornik materialov 10-i mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Scientific search in modern world: collection of materials of the 10th international scientific and practical conference*. Makhachkala; 2015; 137–139. eLIBRARY ID: 24242573. (in Russ.)
9. Isakov S. I. Helminths and helminthiasis of reindeer in Yakutia and control measures. *Yakutsk*; 1992. 36 p. (in Russ.)
10. Pochepko R. A. Rasprostraneniye i stepen' porazheniya severnykh oleney paramfistomatozom v Murmanskoy oblasti = Distribution and level of reindeer infestation with paramphistomatosis in the Murmansk Oblast. *Sovremennoye sostoyaniye i perspektivy prodovol'stvennogo obespecheniya naseleniya Severa RF i ego nauchnogo soprovozhdeniya: materialy sovmestno-go zasedaniya SZRNTs i Komiteta APK Murmanskoi oblasti = The current state and prospects of food supply for the population of the North of the Russian Federation and its scientific support: materials of the joint meeting of the NWRC and the Committee of the Agroindustrial Complex of the Murmansk Oblast*. Murmansk; 2014; 92–95. eLIBRARY ID: 25412926. (in Russ.)
11. Kokolova L. M., Safronov V. M., Platonov T. A., Zakharov E. S., Verkhovtseva L. A., Gavrilieva L. Yu. Epizootological situation on zoonosis and parasitic diseases of animals and fish in Yakutia. *Vestnik of NEFU*. 2012; 9 (3): 86–90. eLIBRARY ID: 20340425. (in Russ.)
12. Loginova O. A., Belova L. M. Food habits of northern deer, conduc-ing their invasion by helminths. *Theory and practice of parasitic disease control*. 2019; 20: 318–322. DOI: 10.31016/978-5-9902340-8-6.2019.20.318-322. (in Russ.)
13. Bolshakova V. A., Grigoriev I. I. Helminthiasis of calves of domestic reindeer in the mountain taiga zone of Yakutia. *Hippology and veterinary*. 2019; 1 (31): 87–90. Available at: [https://noironline.ru/files/ippo/2019/ippo_1\(31\)2019.pdf](https://noironline.ru/files/ippo/2019/ippo_1(31)2019.pdf). (in Russ.)
14. Yuzhakov A. A., Romanenko T. M., Laishev K. A. New knowledge, methods and models in breeding, ecology and epizootology of reindeer. Saint Petersburg; Pushkin: N-W CIRPFM; 2018. 72 p. eLIBRARY ID: 35507223. (in Russ.)
15. Kokolova L. M., Gavrilieva L. Yu., Stepanova S. M. Setarioz severnykh oleney v Yakutii = Setariosis of reindeer in Yakutia. *Tendentsii razvitiya nauki i obrazovaniya*. 2018; 43 (7): 42–44. DOI: 10.18411/lj-10-2018-163. (in Russ.)
16. Kokolova L. M., Gavrilieva L. Yu., Stepanova S. M., Dulova S. V., Siv-tseva E. V. Parasites and parasitic diseases in domestic reindeer of Yaku-tia. *Theory and practice of parasitic disease control*. 2021; 22: 254–260. DOI: 10.31016/978-5-6046256-1-3.2021.22.254-260. (in Russ.)
17. Siben A. N., Klyatskiy A. V. A retrospective analysis of the spread of edematose *Rangifer tarandus* on the territory of KHAMAO-Yugra (2009–2017). *Epokha nauki*. 2018; 16: 348–351. DOI: 10.24411/2409-3203-2018-11683. (in Russ.)
18. Kokolova L. M., Isakov S. I., Platonov T. A., Gavrilieva L. J., Grigo-ryev I. I., Ivanova Z. K., Stepanova S. M. Infectious diseases in farm animals of Yakutia. *Russian Journal of Parasitology*. 2015; 1: 46–52. Available at: <https://vniigis.elpub.ru/jour/article/view/133/136>. (in Russ.)
19. Shalaeva N. M. Ecological peculiarities of helminth fauna of wild reindeer (*Rangifer tarandus* L.) in the Western Taimyr. *Theory and practice of parasitic disease control (materials of reports of the international scientific conference)*. 2017; 18: 533–534. eLIBRARY ID: 30283788. (in Russ.)
20. Grigoriev I. I. Helminths and helminthosis of the domestic deer in the Yakutiamountain and taiga zone. *The Bulletin of KrasGAU*. 2015; 1 (100): 162–166. Available at: <http://www.kgau.ru/vestnik/content/2015/1.pdf>. (in Russ.)
21. Loginova O. A., Belova L. M. Helminthofauna of the young reindeer (*Rangifer tarandus*) in the Leningrad Region. *Theory and practice of para-sitic disease control*. 2020; 21: 199–202. DOI: 10.31016/978-5-9902341-5-4.2020.21.199-202. (in Russ.)
22. Kokolova L. M., Grigoriev I. I. Diktiokaulezy domashnikh i dikikh zhivotnykh Yakutii = Dictyocaulosis of domestic and wild animals of Yakutia. *Problems of modern science and education*. 2014; 3 (21): 123–124. eLIBRARY ID: 21998304. (in Russ.)
23. Leshchev M. V., Boykova T. G., Korniyenko A. P. Spread of cestodiasis of reindeers in the Yamal-Nenets autonomous district. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2007; 6 (174): 121–122. eLIBRARY ID: 9497395. (in Russ.)
24. Handeland K., Davidson R. K., Viljugrein H., Mossing A., Meisingset E., Heum M., Isaksen K. *Elaphostrongylus* and *Dictyocaulus* infections in Nor-wegian wild reindeer and red deer populations in relation to summer pas-ture altitude and climate. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl*. 2019; 10: 188–195. DOI: 10.1016/j.jipppaw.2019.09.003.
25. Jokelainen P., Moroni B., Hoberg E., Oksanen A., Laaksonen S. Gas-trointestinal parasites in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) calves from Fennoscandia: An epidemiological study. *Vet. Parasitol. Reg. Stud. Reports*. 2019; 16:100277. DOI: 10.1016/j.vprsr.2019.100277.
26. Zbrodin V. A., Layshev K. A., Dimov S. K., Samandas A. M., Proku-din A. V. Rational model of epizootic process control in topical disease in populations of domestic northern ole her in the Far North. *Issues of Le-gal Regulation in Veterinary Medicine*. 2011; 2: 20–25. Available at: <https://spbguv.ru/wp-content/uploads/2017/11/Вопросы-нормативно-правового-регулирования-в-ветеринарии-№2-2011.pdf>. (in Russ.)
27. Scriabin K. I. Method of Complete Helminthological Autopsies of Vertebrates, Including Humans. Moscow: Publishing House of Moscow State University; 1928. 45 p. (in Russ.)
28. Pryadko E. I. Helminth parasites of deer. *Almaty: Science of KazSSR*; 1976. 224 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 09.03.2022

Поступила после рецензирования / Revised 15.04.2022

Принята к публикации / Accepted 23.05.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Фирсова Эмилия Викторовна, кандидат сельско-хозяйственных наук, заместитель директора по научной работе ФГБНУ Мурманская ГСХОС, пос. Молочный, Мурманская обл., Россия.

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

Emilia V. Firsova, Candidate of Agricultural Sciences, Deputy Director for Research, FSBSI "Murmansk State Agricultural Experimental Station", Molochny, Murmansk Oblast, Russia.

Rostislav A. Pochepko, Senior Researcher, Laboratory of Science Support of Agricultural Production, FSBSI "Murmansk State Agricultural Experimental Station", Molochny, Murmansk Oblast, Russia.

DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-216-221
УДК 619:616.98:578.828.11:616-036.22(470.67)



Конъюнктура заболеваемости лейкозом крупного рогатого скота на территории Республики Дагестан за 2021 год

А. Р. Мустафаев

Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан» (Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД»), Республика Дагестан, г. Махачкала, Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-5142-8360>, e-mail: mustafaev_arkif@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты эпизоотологического анализа данных по заболеваемости лейкозом крупного рогатого скота на территории Республики Дагестан в 2021 г. Диагностические исследования крови крупного рогатого скота на лейкоз были проведены в 32 ветеринарных лабораториях и диагностических кабинетах, в том числе ГБУ РД «Республиканская ветеринарная лаборатория». Серологическим методом было исследовано 720 489 проб сыворотки крови, из них 7188 (1,0%) образцов оказались серопозитивными к вирусу лейкоза крупного рогатого скота. Из числа инфицированных животных гематологическому исследованию подвергнуто 527 голов. Персистентный лейкоцитоз выявлен в 153 (29,03%) пробах крови гематологически больного лейкозом крупного рогатого скота. Проведен статистический анализ распространения вируса лейкоза крупного рогатого скота в республике в разрезе 41 района и 8 городских округов. Высокий процент инфицированности поголовья вирусом лейкоза крупного рогатого скота выявлен в 14 районах: Кумторкалинском (5,8%), Гунибском (5,3%), Тарумовском (3,3%), Карабудахкентском (2,9%), Ахвахском (2,0%), Кизлярском (1,8%), Чародинском (1,7%), Казбековском (1,6%), Бабаюртовском (1,5%), Тляртинском (1,1%), Дахадаевском (1,04%), Сергокалинском (1,02%), Новолакском (1,0%), Шамильском (1,0%); 4 городах: Махачкале (2,0%), Избербаше (1,14%), Хасавюрте (1,1%), Южно-Сухокумске (1,0%). В 21 районе и в 2 городских округах показатель серопозитивности к вирусу лейкоза крупного рогатого скота составил менее 1,0%. В Агульском, Ахтынском, Докузпаринском, Магарамкентском, Хивском, Сулейман-Стальском районах, городах Дербент и Дагестанские Огни инфицированные вирусом лейкоза крупного рогатого скота животные не выявлены. При изучении динамики распространения вируса лейкоза крупного рогатого скота в 2015–2021 гг. установлено, что наибольший уровень инфицированности животных был в 2015 г. (13,9%), а наименьший – в 2021 г. (1,0%), но численность поголовья, подвергнутого серологическому исследованию, в 2021 г. превосходила таковую за весь анализируемый период. Таким образом, Республика Дагестан остается регионом, неблагоприятным по лейкозу крупного рогатого скота.

Ключевые слова: лейкоз крупного рогатого скота, распространенность, эпизоотологический анализ, заболеваемость, Республика Дагестан

Для цитирования: Мустафаев А. Р. Конъюнктура заболеваемости лейкозом крупного рогатого скота на территории Республики Дагестан за 2021 год. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 216–221. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-216-221.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Мустафаев Аркиф Рамазанович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», 367000, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88, e-mail: mustafaev_arkif@mail.ru.

Bovine leukosis incidence in Republic of Dagestan in 2021

A. R. Mustafayev

Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia;
<https://orcid.org/0000-0002-5142-8360>, e-mail: mustafaev_arkif@mail.ru

SUMMARY

Results of epizootological analysis of data on bovine leucosis (BL) incidence in the Republic of Dagestan in 2021 are reported. Bovine blood was diagnostically tested for leukosis in 32 veterinary laboratories and diagnostic offices including SBI RD Republican Veterinary Laboratory. 720,489 sera were serologically tested and 7,188 (1.0%) samples were serologically positive for bovine leukaemia virus (BLV). Among the infected animals, 527 ones were subjected to haematologic testing. Persistent leukocytosis was reported in 153 (29.03%) blood samples of haematologically tested BL diseased cattle. Statistical analysis of BLV prevalence in the republic was performed for 41 Raions and 8 municipalities. High percentage of BLV infection in the animal population was reported in fourteen Raions: Kumtorkalinsky (5.8%), Gunibsky (5.3%), Tarumovsky (3.3%), Karabudakhentsky (2.9%), Akhvakhsky (2.0%), Kizlyarsky (1.8%), Charodinsky (1.7%), Kazbekovsky (1.6%), Babayurtovsky (1.5%), Tlyaratinsky (1.1%), Dakhadayevsky (1.04%), Sergokalinsky (1.02%), Novolaksky (1.0%), Shamilsky (1.0%), and in four municipalities: Makhachkala (2.0%), Izberbash (1.14%), Khasavyurt (1.1%) and Yuzhno-Sukhokumsk (1.0%). In 21 Raions and two municipalities, BLV seropositivity was below 1.0%. No BLV infected animals were detected in the Agulsky, Akhtynsky, Dokuzparinsky, Magaramkentky, Khivsky, Suleiman-Stalsky Raions and in Dербent and Dagestanskiye Ogni municipalities. Studies of BLV prevalence in 2015–2021 demonstrated that the highest level of the animal infection was reported

in 2015 (13.9%) and the lowest – in 2021 (1.0%). However, the number of animals serologically tested in 2021 exceeded the number of animals tested over the whole study period. Therefore, the Republic of Dagestan remains BL infected region.

Keywords: bovine leukosis, prevalence, epizootological analysis, incidence, Republic of Dagestan

For citation: Mustafayev A. R. Bovine leukosis incidence in Republic of Dagestan in 2021. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 216–221. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-216-221.

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

For correspondence: Arkif R. Mustafayev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Infectious Pathology of Farm Animals, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 367000, Russia, Republic of Dagestan, Makhachkala, ul. Dakha-daeva, 88, e-mail: mustafaev_arkif@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Лейкоз крупного рогатого скота (энзоотический лейкоз, ЭЛКРС) вызывает вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС), который в организме животного приводит к неопластическому росту гемобластных клеток в крови путем малигнизации и пролиферации клеток иммунной системы, а именно увеличения количества лейкоцитов (В-лимфоцитов) [1–5].

Данная вирусная болезнь крупного рогатого скота широко распространена в США, Канаде, Китае, Японии, Российской Федерации. Свободными от ВЛКРС считаются страны Западной Европы (Норвегия, Финляндия, Швеция, Дания и т. д.), Новая Зеландия. В таких странах, как Италия, Португалия, Латвия, Греция, Румыния, Болгария и Белоруссия, лейкоз крупного рогатого скота проявляется в виде спорадических случаев [6–12]. Согласно санитарным требованиям, изложенным в «Кодексе здоровья наземных животных» Всемирной организации здравоохранения животных¹, животноводческое хозяйство считается благополучным по лейкозу, если в течение последних 3 лет 99,8% поголовья стада было свободно от ВЛКРС [13, 14].

В Республике Дагестан за последние годы был принят ряд программ, направленных на предотвращение распространения ВЛКРС и искоренение заболевания в животноводческих хозяйствах региона: «План мероприятий по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота на территории Республики Дагестан на 2017–2020 годы»² (утвержден распоряжением Правительства Республики Дагестан от 11 сентября 2017 г. № 323-р), «Профилактика и ликвидация лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Дагестан» (утверждено постановлением Правительства Республики Дагестан от 28 июня 2018 г. № 76)³.

В республике, с целью выявления инфицированных ВЛКРС и больных животных, серологическими и гематологическими методами проводят диагностические исследования крови практически всего поголовья крупного рогатого скота. Однако лейкоз крупного рогатого скота на территории региона по-прежнему продолжает оставаться актуальной проблемой. Одной из причин сложившейся ситуации является то, что в Да-

гестане не ведется целенаправленной деятельности по борьбе с данным заболеванием, а также не проводятся в полном объеме оздоровительно-профилактические мероприятия, предусмотренные ветеринарным законодательством⁴.

Исходя из вышеописанного, была поставлена цель – изучить распространение ВЛКРС в регионе и провести эпизоотологический анализ данных по заболеваемости лейкозом крупного рогатого скота на территории Республики Дагестан в 2021 г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основными материалами для изучения эпизоотической ситуации по энзоотическому лейкозу крупного рогатого скота в Республике Дагестан послужили отчетные данные республиканской, межрайонных и районных ветеринарных лабораторий за 2021 г., а также диагностических кабинетов, находящихся в районах. В работе использовали сыворотки нативной крови крупного рогатого скота, полученные из различных населенных пунктов и животноводческих хозяйств разных форм собственности.

Серологические и гематологические исследования проводили согласно «Методическим указаниям по диагностике лейкоза крупного рогатого скота» с применением реакции иммунодиффузии (РИД) и гематологического анализатора крови, эпизоотологическое – в соответствии с «Методическими рекомендациями по эпизоотологическому исследованию при лейкозе крупного рогатого скота» [15, 16].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Диагностические исследования на лейкоз крупного рогатого скота были проведены в 32 межрайонных, зональных ветеринарных лабораториях, включая ГБУ РД «Республиканская ветеринарная лаборатория», а также диагностических кабинетах, расположенных на территории районов. Биологический материал (кровь и сыворотку крови) от животных доставляли в ветеринарную лабораторию по принципу «зона

¹ https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/oi/oiie_terrestrial_code_g_t1.pdf.

² <https://docs.cntd.ru/document/450340001>.

³ <https://docs.cntd.ru/document/550147549>.

⁴ Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза крупного рогатого скота: утв. приказом Минсельхоза России от 24 марта 2021 г. № 156. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/603433105>.

обслуживания». Однако в республике имеются зоны отгонного животноводства, куда перегоняются животные (крупный или мелкий рогатый скот) в основном в осенне-зимний период. Все диагностические исследования животных, содержащихся в прикутаных хозяйствах, проводятся в зональных ветеринарных

Таблица 1

Эпизоотологический мониторинг лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан в 2021 г.

Table 1

BL epizootological monitoring in the Republic of Dagestan, 2021

№ п/п	Наименование ветеринарной лаборатории	Серологические исследования			Гематологические исследования РИД-положительных животных		
		количество животных	РИД-положительные	%	количество проб крови	выявлено больных	%
1	Республиканская	47 538	2377	5,0	103	22	21,4
2	Агульская	4444	—	—	—	—	—
3	Акушинская	24 974	—	—	—	—	—
4	Бабаюртовская	44 456	789	1,8	312	90	28,8
5	Ботлихская	51 768	—	—	—	—	—
6	Буйнакская	28 242	81	0,3	—	—	—
7	Гумбетовская	—	—	—	—	—	—
8	Гунибская	16 236	48	0,3	—	—	—
9	Дахадаевская	16 565	—	—	—	—	—
10	Дербентская	18 075	25	0,14	—	—	—
11	Докузпаринская	22 193	—	—	—	—	—
12	Избербашская	15 608	134	0,9	—	—	—
13	Касумкентская	21 764	—	—	2	—	—
14	Кизилюртовская	38 339	188	0,5	—	—	—
15	Кизлярская	41 244	680	1,6	—	—	—
16	Кочубейская	42 574	973	2,3	90	32	35,6
17	Кулинская	11 847	4	0,03	—	—	—
18	Курахская	8257	—	—	—	—	—
19	Лакская	17 866	4	0,02	—	—	—
20	Левашинская	19 775	48	0,2	—	—	—
21	Майдановская	24 124	—	—	—	—	—
22	Ногайская	16 051	11	0,07	—	—	—
23	Рутульская	6402	—	—	—	—	—
24	Табасаранская	12 208	29	0,2	—	—	—
25	Тарумовская	26 313	803	3,1	—	—	—
26	Тляртинская	3631	—	—	—	—	—
27	Хасавюртовская	89 979	969	1,08	20	9	45,0
28	Хивская	6437	—	—	—	—	—
29	Хунзахская	4217	—	—	—	—	—
30	Цунтинская	10 253	—	—	—	—	—
31	Чародинская	12 640	25	0,2	—	—	—
32	Шамилевская	16 469	—	—	—	—	—
Всего		720 489	7188	1,0	527	153	29,03

лабораториях [17, 18]. В 2021 г. сотрудниками ветеринарных лабораторий Республики Дагестан были проведены серологические исследования 720 489 проб сыворотки крови крупного рогатого скота на наличие антител к ВЛКРС, из них 7188 (1%) образцов оказались серопозитивными. За этот период гематологическим методом исследовали кровь, полученную от 527 голов инфицированных животных для установления персистентного лейкоцитоза. При этом было выявлено 153 (29,03%) пробы крови гематологически больного лейкозом крупного рогатого скота.

В таблице 1 представлены результаты серологического и гематологического исследований сывороток крови и цельной крови крупного рогатого скота на ЭЛКРС. Так, наибольшее количество серологических исследований было проведено в лабораториях, расположенных в равнинной зоне Дагестана, где сконцентрирована основная часть поголовья: в Хасавюртовской зональной ветеринарной лаборатории – 89 979 проб сыворотки крови крупного рогатого скота, в республиканской – 47 538, в Бабаюртовской – 44 456, в Кочубейской – 42 574, в Кизлярской – 41 244, в Кизилюртовской – 38 339, в Тарумовской – 26 313, в Избербашской – 15 608. Серопозитивность животных к ВЛКРС составила: 1,08% (969 гол.); 5,0% (2377 гол.); 1,8% (789 гол.); 2,3% (973 гол.); 1,6% (680 гол.); 0,5% (188 гол.); 3,1% (803 гол.); 0,9% (134 гол.) соответственно. Анализ данных, полученных из девяти ветеринарных лабораторий, показал, что уровень инфицированности животных ВЛКРС был ниже 0,5%: в Дербентской – 0,14% (25 гол.), в Буйнакской – 0,3% (81 гол.), в Гунибской – 0,3% (48 гол.), в Левашинской – 0,2% (48 гол.), в Табасаранской – 0,2% (29 гол.), в Чародинской – 0,2% (25 гол.), в Ногайской – 0,07% (11 гол.), в Кулинской – 0,03% (4 гол.), в Лакской – 0,02% (4 гол.). В остальных 14 ветеринарных лабораториях и диагностических кабинетах, преимущественно находящихся в горной части республики, лейкоз крупного рогатого скота не был диагностирован. В Гумбетовском диагностическом кабинете исследования сывороток крови животных для выявления специфических преципитирующих антител к антигенам ВЛКРС не проводили.

Полученные данные свидетельствуют о том, что в республике проводятся широкомасштабные серологические исследования по обнаружению антител к ВЛКРС, а гематологические исследования крови животных осуществляют выборочно, что не дает полной картины заболеваемости ЭЛКРС. Тем не менее из тех незначительных приведенных данных гематологического анализа за 2021 г. и предыдущий период можно сделать вывод о том, что уровень заболеваемости высокий, при этом гематологически больных животных не выбраковывают из стада [19].

На следующем этапе работы проведен анализ эпизоотологических данных по лейкозу крупного рогатого скота по районам и городам республики за 2021 г. В состав Дагестана входят 41 район и 10 городских округов. Практически в каждой административной единице были проведены серологические исследования сывороток крови крупного рогатого скота на лейкоз (табл. 2). Всего было исследовано 720 489 проб крови, из которых 7188 (1,0%) оказались серопозитивными. Высокий процент инфицированности поголовья ВЛКРС выявлен в 14 районах и 4 городских округах. Наибольшее количество серопозитивных животных

Таблица 2

Диагностические исследования на лейкоз крупного рогатого скота в районах и городских округах Республики Дагестан в 2021 г.

(по данным ГБУ РД «Республиканская ветеринарная лаборатория»)

Table 2

BL diagnostic tests in the Raions and municipalities of the Republic of Dagestan, 2021 (according to SBI RD Republican Veterinary Laboratory)

№ п/п	Районы и городские округа	Серологические исследования			№ п/п	Районы и городские округа	Серологические исследования		
		количество животных	РИД-положительные	выявлено инфицированных, %			количество животных	РИД-положительные	выявлено инфицированных, %
1	Агульский	4552	—	—	27	Ногайский	15 139	10	0,07
2	Акушинский	45 590	180	0,4	28	Рутульский	9201	36	0,4
3	Ахвахский	14 887	299	2,0	29	Сулейман-Стальский	9297	—	—
4	Ахтынский	10 391	—	—	30	Сергокалинский	6353	65	1,02
5	Бабаюртовский	11 372	174	1,5	31	Табасаранский	12 453	29	0,2
6	Ботлихский	32 405	130	0,4	32	Тарумовский	30 225	983	3,3
7	Буйнакский	28 213	81	0,3	33	Тляртинский	13 536	151	1,1
8	Гергебильский	24 863	193	0,8	34	Унцукульский	13 493	93	0,7
9	Гумбетовский	11 356	35	0,31	35	Хасавюртовский	59 650	305	0,5
10	Гунибский	24 432	1300	5,3	36	Хивский	7196	—	—
11	Дахадаевский	13 605	141	1,04	37	Хунзахский	12 880	54	0,4
12	Дербентский	14 754	22	0,15	38	Цумадинский	16 568	88	0,5
13	Докузпаринский	9077	—	—	39	Цунтинский, Бежтинский участок*	6528 3215	11 —	0,2 —
14	Казбековский	14 897	243	1,6	40	Чародинский	20 298	349	1,7
15	Кайтагский	5477	2	0,04	41	Шамильский	23 306	224	1,0
16	Кизилюртский	14 397	45	0,3	42	г. Кизляр	7086	20	0,3
17	Кумторкалинский	5256	305	5,8	43	г. Махачкала	14 785	290	2,0
18	Каякентский	7840	56	0,7	44	г. Каспийск	706	4	0,6
19	Карабудахкентский	9228	263	2,9	45	г. Избербаш	702	8	1,14
20	Кизлярский	25 874	467	1,8	46	г. Южно-Сухокумск	3895	39	1,0
21	Кулинский	22 206	111	0,5	47	г. Дербент	560	—	—
22	Курахский	9090	2	0,02	48	г. Дагестанские Огни	456	—	—
23	Лакский	22 863	170	0,7	49	г. Хасавюрт	2505	27	1,1
24	Левашинский	21 965	77	0,4	Всего		720 489	7188	1,0
25	Магарамкентский	15 192	—	—					
26	Новолакский	10674	106	1,0					

* Бежтинский участок – административная территория в составе Цунтинского района.

*Bezhtinsky District – administrative region within Tsuntinsky Raion.

содержится в хозяйствах, расположенных на равнинах, и в прикутаных хозяйствах в предгорных и горных районах, находящихся в низменной части (равнинной зоне) республики. В этих районах и городских округах уровень инфицированности ВЛКРС был в диапазоне от 1,0 до 5,8%: в Кумторкалинском – 5,8%, в Гунибском – 5,3%, в Тарумовском – 3,3%, в Карабудахкентском – 2,9%, в Ахвахском – 2,0%, в Кизлярском – 1,8%, в Чародинском – 1,7%, в Казбековском – 1,6%, в Бабаюртовском – 1,5%, в Тляртинском – 1,1%, в Дахадаевском – 1,04%, в Сергокалинском – 1,02%, в Новолакском и Шамильском – по 1,0%, а также в г. Махачкале – 2,0%, в г. Избербаше – 1,14%, в г. Хасавюрте – 1,1% и в г. Южно-Сухокумске – 1,0%. В 21 районе и 2 городских округах уровень серопозитивности к ВЛКРС составил менее 1,0%. В остальных 6 районах (Агульском, Ахты-

ском, Докузпаринском, Магарамкентском, Хивском, Сулейман-Стальском) и 2 городских округах (г. Дербент, г. Дагестанские Огни) инфицированные ВЛКРС животные не выявлены.

Установлено, что общий уровень инфицированности поголовья ВЛКРС в республике в 2021 г. (1,0%) по сравнению с 2020 г. (1,02%) не снизился, а количество животных, подвергшихся диагностическим исследованиям на лейкоз крупного рогатого скота, увеличилось [20].

С целью изучения динамики распространения ВЛКРС были проанализированы эпизоотологические данные по лейкозу крупного рогатого скота в республике за 2015–2021 гг.

Как видно из рисунка, наибольшее количество серологических исследований на лейкоз крупного рогатого

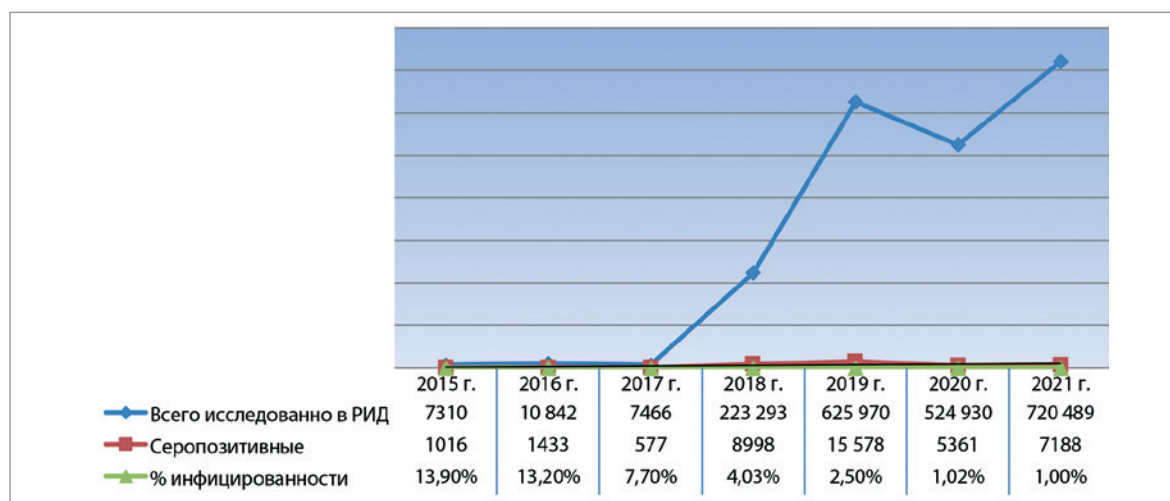


Рис. Динамика распространения лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан в 2015–2021 гг.

Fig. BL spread dynamics in the Republic of Dagestan, 2015–2021

скота было проведено в 2021 г., а уровень инфицированности поголовья в этот период был наименьший. В 2015 г. было исследовано всего 7310 проб крови крупного рогатого скота, при этом показатель серопозитивности был на уровне 13,9% (1016 гол.). Высокий процент инфицированности поголовья был связан с выборочными исследованиями на лейкоз и отсутствием программы профилактики и борьбы с данным заболеванием в Республике Дагестан. Широкомасштабные диагностические исследования на лейкоз крупного рогатого скота в регионе начали проводить с 2018 г. в соответствии с утвержденным «Планом мероприятий по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота на территории Республики Дагестан на 2017–2020 годы», но оздоровительно-профилактические мероприятия не осуществлялись. После принятия данного плана количество животных, подвергнутых диагностическим исследованиям, резко увеличилось: в 2018 г. – 223 293 гол., 2019 г. – 625 970 гол., 2020 г. – 524 930 гол., 2021 г. – 720 489 гол. Процент инфицированного ВЛКРС поголовья снизился с 4,03% в 2018 г. до 1,0% в 2021 г.

Таким образом, можно заключить, что процент инфицированности животных ВЛКРС и уровень заболеваемости поголовья лейкозом все еще остаются высокими. Данное положение объясняется тем, что планомерная работа по профилактике и оздоровлению животноводческих хозяйств от данного заболевания в Республике Дагестан ведется пока еще непродолжительное время и в неполном объеме.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диагностические исследования на лейкоз крупного рогатого скота в 2021 г. проведены во всех ветеринарных лабораториях, расположенных на территории Республики Дагестан, за исключением Гумбетовского диагностического кабинета.

Серологическим методом исследовано 720 489 проб сывороток крови крупного рогатого скота, из которых 7188 (1%) образцов оказались серопозитивными. Высокий уровень инфицированности животных ВЛКРС выявлен в 14 районах и 4 городских округах, в 2 городах и 21 районе уровень серопозитивности к ВЛКРС соста-

вил менее 1,0%. В Агульском, Ахтынском, Докузпаринском, Магарамкентском, Хивском, Сулейман-Стальском районах, а также в городах Дербент и Дагестанские Огни инфицированные ВЛКРС животные не выявлены. За период с 2015 по 2021 г. наименьший процент инфицированности поголовья ВЛКРС зафиксирован в 2021 г. – 1,0% от общего числа исследованных животных.

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что лейкоз крупного рогатого скота диагностируется почти во всех ветеринарных лабораториях республики, уровень заболеваемости поголовья высокий, а целенаправленные оздоровительно-профилактические мероприятия в республике проводятся в недостаточном объеме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Olaya-Galán N. N., Corredor-Figueroa A. P., Guzmán-Garzón T. C., Ríos-Hernández K. S., Salas-Cárdenas S. P., Patarroyo M. A., Gutierrez M. F. Bovine leukaemia virus DNA in fresh milk and raw beef for human consumption. *Epidemiol. Infect.* 2017; 145 (15): 3125–3130. DOI: 10.1017/S0950268817002229.
- Zhang R., Jiang J., Sun W., Zhang J., Huang K., Gu X., et al. Lack of association between bovine leukemia virus and breast cancer in Chinese patients. *Breast Cancer Res.* 2016; 18 (1):101. DOI: 10.1186/s13058-016-0763-8.
- Мустафаев А. Р. Применение реакции иммунодиффузии как один из способов послеубойной диагностики лейкоза крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня.* 2022; 11 (1): 49–52. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-1-49-52.
- Симомян Г. А., Хисамудинов Ф. Ф. Ветеринарная гематология. М.: Колос; 1995. 256 с.
- Мустафаев А. Р., Ивашов Э. А. Динамика заболеваемости крупного рогатого скота вирусом лейкоза на фоне гамма-излучения на территории Республики Дагестан после Чернобыльской аварии. *Ветеринарный врач.* 2021; 5: 30–38. DOI: 10.33632/1998-698X.2021-5-30-38.
- Mirsky M. L., Olmstead C. A., Da Y., Lewin H. A. The prevalence of proviral bovine leukemia virus in peripheral blood mononuclear cells at two sub-clinical stages of infection. *J. Virol.* 1996; 70 (4): 2178–2183. DOI: 10.1128/JVI.70.4.2178-2183.1996.
- Nekoei S., Hafshejani T. T., Doosti A., Khamesipour F. Molecular detection of bovine leukemia virus in peripheral blood of Iranian cattle, camel and sheep. *Pol. J. Vet. Sci.* 2015; 8 (4): 703–707. DOI: 10.1515/pjvs-2015-0091.
- Донник И. М., Пономарева О. И., Кривонос Р. А., Лысенко А. А., Кощаев А. Г., Черных О. Ю. и др. Ликвидация лейкоза крупного рогатого скота в условиях промышленного производства. *Ветеринария Кубани.* 2021; 2: 3–8. DOI: 10.33861/2071-8020-2021-2-3-8.
- Гулюкин М. И., Барабанов И. И., Иванова Л. А., Степанова Т. В., Козырева Н. Г., Симомян Г. А. и др. Мониторинг эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в товарных и племенных

хозяйствах Российской Федерации за 2014–2015 годы. *Ветеринария и кормление*. 2016; 4: 5–41. Режим доступа: <http://vetkorm.ru/magazines/veterinariya-i-kormlenie-4-ijul-avgust-2016g>.

10. Мищенко В. А., Петрова О. Н., Караулов А. К., Мищенко А. В. Проблема лейкоза крупного рогатого скота. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2018. 38 с. Режим доступа: <https://www.arriah.ru/upload/iblock/ff2/ff282f8bce04ee91ae62653b6f608805.pdf>.

11. Gillet N., Florins A., Boxus M., Burteau C., Nigro A., Vandermeers F., et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology*. 2007; 4:18. DOI: 10.1186/1742-4690-4-18.

12. Wu D., Takahashi K., Murakami K., Tani K., Koguchi A., Asahina M., et al. B-1a, B-1b and conventional B cell lymphoma from enzootic bovine leukosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1996; 55 (1–3): 63–72. DOI: 10.1016/S0165-2427(96)05631-0.

13. Донник И. М., Гулюкин М. И., Бусол В. А., Коваленко Л. В., Коваленко А. М. Лейкоз крупного рогатого скота – диагностика, оздоровление, антропоонозный потенциал (история вопроса) (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2021; 56 (2): 230–244. DOI: 10.15389/agrobiology.2021.2.230rus.

14. Макаров В. В., Лозовой Д. А. Эпизоотические особенности современного лейкоза крупного рогатого скота. *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2020; 1: 53–58. DOI: 10.30850/vrsn/2020/1/53-58.

15. Методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота: утв. Департаментом ветеринарии МСХ РФ от 23.08.2000 № 1372/2130. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200118749>.

16. Методические рекомендации по эпизоотологическому исследованию при лейкозе крупного рогатого скота: утв. академиком А. М. Смирновым, Отделение ветеринарной медицины РАСХН 19.06.2001. М.; 2001. 28 с.

17. Мустафаев А. Р., Гулюкин М. И., Салихов Ю. С. Мониторинг по распространению вируса лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан за 2018 год. *Ветеринария и кормление*. 2019; 4: 18–20. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-4-5.

18. Мустафаев А. Р., Ивашев Э. А. Влияние радиоактивных изотопов ^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{210}Pb на объекты внешней среды и их взаимосвязь с лейкозом крупного рогатого скота в экосистемах Республике Дагестан. *Юг России: экология, развитие*. 2021; 16 (4): 136–145. DOI: 10.18470/1992-1098-2021-4-136-145.

19. Мустафаев А. Р., Гулюкин М. И., Гайдарбекова Х. М. Анализ эпизоотической обстановки вируса лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан. *Ветеринария и кормление*. 2017; 5: 25–27. Режим доступа: <http://vetkorm.ru/magazines/veterinariya-i-kormlenie-5-sentyabr-oktyabr-2017g>.

20. Мустафаев А. Р. Эпизоотическая обстановка по энзоотическому лейкозу крупного рогатого скота в общественных и индивидуальных хозяйствах Республики Дагестан. *Ветеринария сегодня*. 2021; (2): 144–150. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-144-150.

REFERENCES

1. Olaya-Galán N. N., Corredor-Figueroa A. P., Guzmán-Garzón T. C., Ríos-Hernández K. S., Salas-Cárdenas S. P., Patarroyo M. A., Gutiérrez M. F. Bovine leukaemia virus DNA in fresh milk and raw beef for human consumption. *Epidemiol. Infect.* 2017; 145 (15): 3125–3130. DOI: 10.1017/S0950268817002229.

2. Zhang R., Jiang J., Sun W., Zhang J., Huang K., Gu X., et al. Lack of association between bovine leukemia virus and breast cancer in Chinese patients. *Breast Cancer Res.* 2016; 18 (1):101. DOI: 10.1186/s13058-016-0763-8.

3. Mustafayev A. R. Immunodiffusion assay as a method of bovine leukosis post-mortem diagnosis. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (1): 49–52. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-1-49-52.

4. Simonyan G. A., Khisamudinov F. F. Veterinary hematology. Moscow: Kolos; 1995. 256 p. (in Russ.)

5. Mustafaev A. R., Ivashov E. A. Dynamics of incidence of cattle with leukosis virus on the background of gamma radiation in the territory of

the Republic of Dagestan after the Chernobyl accident. *Veterinarian*. 2021; 5: 30–38. DOI: 10.33632/1998-698X.2021-5-30-38. (in Russ.)

6. Mirsky M. L., Olmstead C. A., Da Y., Lewin H. A. The prevalence of proviral bovine leukemia virus in peripheral blood mononuclear cells at two sub-clinical stages of infection. *J. Virol.* 1996; 70 (4): 2178–2183. DOI: 10.1128/JVI.70.4.2178-2183.1996.

7. Nekoei S., Hafshejani T. T., Doosti A., Khamesipour F. Molecular detection of bovine leukemia virus in peripheral blood of Iranian cattle, camel and sheep. *Pol. J. Vet. Sci.* 2015; 8 (4): 703–707. DOI: 10.1515/pjvs-2015-0091.

8. Donnik I. M., Ponomareva O. I., Krivonos R. A., Lysenko A. A., Koshchayev A. G., Chernykh O. Yu., et al. Elimination of bovine leukemia in industrial production conditions. *Veterinaria Kubani*. 2021; 2: 3–8. DOI: 10.33861/2071-8020-2021-2-3-8. (in Russ.)

9. Gulykin M., Barabanov I., Ivanova L., Stepanova T., Kozireva N., Simonian G., et al. Monitoring of epidemiologic situation with Bovine Leukemia in production and breeding herds of Russian Federation in 2014–2015. *Veterinaria i kormlenie*. 2016; 4: 5–41. Available at: <http://vetkorm.ru/magazines/veterinariya-i-kormlenie-4-ijul-avgust-2016g>. (in Russ.)

10. Mischenko V. A., Petrova O. N., Karaulov A. K., Mischenko A. V. The problem of bovine leukemia. Vladimir: FGBI «ARRIAH»; 2018. 38 p. Available at: <https://www.arriah.ru/upload/iblock/ff2/ff282f8bce04ee91ae62653b6f608805.pdf>. (in Russ.)

11. Gillet N., Florins A., Boxus M., Burteau C., Nigro A., Vandermeers F., et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology*. 2007; 4:18. DOI: 10.1186/1742-4690-4-18.

12. Wu D., Takahashi K., Murakami K., Tani K., Koguchi A., Asahina M., et al. B-1a, B-1b and conventional B cell lymphoma from enzootic bovine leukosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1996; 55 (1–3): 63–72. DOI: 10.1016/S0165-2427(96)05631-0.

13. Donnik I. M., Gulyukin M. I., Busol V. A., Kovalenko L. V., Kovalenko A. M. Bovine leukemia virus infection – diagnostics, eradication, and anthropozoonotic potential (background) (review). *Agricultural biology*. 2021; 56 (2): 230–244. DOI: 10.15389/agrobiology.2021.2.230eng.

14. Makarov V. V., Lozovoy D. A. Epizootological features of modern cattle leukemia. *Vestnik of the Russian agricultural science*. 2020; 1: 53–58. DOI: 10.30850/vrsn/2020/1/53-58. (in Russ.)

15. Methodical instructions for diagnosis of bovine leucosis: approved by Veterinary Department of the RF Ministry of Agriculture on August 23, 2000 No. 13-7-2/2130. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200118749>. (in Russ.)

16. Methodical instructions for epidemiological study of bovine leucosis: approved by academician A. M. Smirnov, Veterinary Medicine Department of the Russian Academy of Agricultural Sciences, on June 19, 2001. Moscow; 2001. 28 p. (in Russ.)

17. Mustafaev A., Gulyukin M., Salikhov Yu. Monitoring of the spread of bovine leukemia virus in the Republic of Dagestan in 2018. *Veterinaria i kormlenie*. 2019; 4: 18–20. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-4-5. (in Russ.)

18. Mustafayev A. R., Ivashov E. A. Influence of radioactive isotopes ^{90}Sr , ^{137}Cs , ^{210}Pb on environmental objects and their relationship with bovine leukemia in ecosystems of the Republic of Dagestan. *South of Russia: ecology, development*. 2021; 16 (4): 136–145. DOI: 10.18470/1992-1098-2021-4-136-145. (in Russ.)

19. Mustafayev A. R., Gulyukin M. I., Gaydarbekova H. M. The analysis of the epizootic situation of the virus of cattle leukosis in the Republic of Dagestan. *Veterinaria i kormlenie*. 2017; 5: 25–27. Available at: <http://vetkorm.ru/magazines/veterinariya-i-kormlenie-5-sentyabr-oktyabr-2017g>. (in Russ.)

20. Mustafayev A. R. Epidemic situation on enzootic bovine leukosis in public and individual farms in the Republic of Dagestan. *Veterinary Science Today*. 2021; (2): 144–150. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-144-150.

Поступила в редакцию / Received 07.02.2022

Поступила после рецензирования / Revised 04.04.2022

Принята к публикации / Accepted 20.04.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Мустафаев Аркиф Рамазанович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Россия.

Arkiv R. Mustafayev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Infectious Pathology of Farm Animals, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Russia.

DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-222-228
УДК 619:579.873.21:636.2:616.9-036.22(470.67)



Актуализированная эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Дагестан

М. О. Баратов¹, П. С. Гусейнова²

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

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

² <https://orcid.org/0000-0001-8417-120X>, e-mail: patimat.guseynova1972@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Из-за несовершенства статистических данных и несоответствия расчетных и практических показателей не представляется возможным привести хотя бы приблизительные цифры о заболеваемости животных туберкулезом в Республике Дагестан. С каждым годом число реагирующих на туберкулин животных растет. Так, из 2944 исследованных телок случного возраста в 2014–2019 гг. выявлено до 30% особей, реагирующих на введение туберкулина. За этот период из 1166 подвергнутых вынужденному убою животных диагноз на туберкулез подтвержден у 326 (28%). При проведении бактериологических исследований удалось изолировать 291 культуру микобактерий, из них к *Mycobacterium bovis* отнесено 107 культур, остальные 184 идентифицированы как атипичные. Во многих хозяйствах одновременно с *Mycobacterium bovis* выделялись и нетуберкулезные кислотоустойчивые микобактерии. При видовой дифференциации 58 культур изолировано 22 культуры второй группы (по Раньону), 18 из которых отнесены к *Mycobacterium gordonae*, 2 – к *Mycobacterium flavescens*, у двух видовую принадлежность установить не удалось. Четыре культуры третьей группы являются представителями вида *Mycobacterium intracellulare*. Из 32 культур четвертой группы 2 отнесены к *Mycobacterium smegmatis*, 7 – к *Mycobacterium fortuitum* и 1 – к *Mycobacterium phlei*, у 22 культур вид не установлен. Для выяснения роли молока в эпизоотологии туберкулеза исследовано 82 пробы от реагирующих на туберкулин животных двух хозяйств. В одном, где реагирующие животные передерживались длительный период, микобактерии в молоке выявлялись в 20% случаев, в другом, где туберкулез выявлен недавно, доля обнаружения составляла 4%, что говорит о большой опасности длительной передержки животных с положительной аллергической реакцией. Проведенные микроскопические, традиционно фенотипические и узкие биохимические исследования свидетельствуют, что выявляемые в процессе диагностики парааллергические реакции обусловлены наличием в организме животных атипичных микобактерий отмеченных групп и видов, которые, по-видимому, обуславливают сенсибилизацию организма к туберкулину. Своевременное и полное выполнение диагностических и ветеринарно-санитарных мероприятий позволит улучшить ситуацию в республике.

Ключевые слова: туберкулез, крупный рогатый скот, микобактерии, атипичные микобактерии, неблагополучные пункты, туберкулин, аллергические исследования, дифференциация, идентификация, парааллергические реакции

Для цитирования: Баратов М. О., Гусейнова П. С. Актуализированная эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Дагестан. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 222–228. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-222-228.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Actual bovine tuberculosis situation in the Republic of Dagestan

M. O. Baratov¹, P. S. Huseynova²

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

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

² <https://orcid.org/0000-0001-8417-120X>, e-mail: patimat.guseynova1972@mail.ru

SUMMARY

Lack of statistical data and inconsistencies in science and practice make it impossible to give at least approximate tuberculosis prevalence rates in the Republic of Dagestan. Every year the number of tuberculin reacting animals is increasing. For example out of 2,944 tested heifers of breeding age in 2014–2019, up to 30% of animals had positive reactions in tests. During this period out of 1,166 emergency slaughtered animals, tuberculosis was confirmed in 326 animals (28%). Bacteriological tests revealed 291 mycobacterium cultures, 107 out of them were *Mycobacterium bovis*, the other 184 cultures were identified as atypical ones. Based

on the species differentiation of 58 cultures, 22 Group II cultures (according to Runyon classification) were isolated; 18 out of them belonged to *Mycobacterium gordonae*, 2 to *Mycobacterium flavescens*, and species of two cultures could not be identified. Four cultures of Group III were species of *Mycobacterium intracellulare*. Out of 32 cultures of Group IV, two belonged to *Mycobacterium smegmatis*, seven to *Mycobacterium fortuitum* and one to *Mycobacterium phlei*, 22 cultures were not identified. To elucidate the role of milk in tuberculosis epidemiology 82 samples of milk from reactors from two farms were tested. In the farm, where reactors were awaiting their removal for a long time, mycobacteria were detected in 20% of milk samples, whereas in the recently infected farm the detection rate was 4%, which suggests that long awaiting periods present high risks. Microscopic, conventional phenotypic and targeted biochemical tests indicate that pseudo-allergic reactions, revealed by tests, result from the atypical mycobacteria of the mentioned groups and species, which present in the animal organism, and seem to be responsible for the tuberculin sensibilization. Timely and comprehensive diagnostic and animal health measures will improve the situation.

Keywords: tuberculosis, cattle, mycobacteria, atypical mycobacteria, infected farms, tuberculin, allergy tests, differentiation, identification, pseudo-allergic reactions

For citation: Baratov M. O., Huseynova P. S. Actual bovine tuberculosis situation in the Republic of Dagestan. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 222–228. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-222-228.

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

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

ВВЕДЕНИЕ

За последние годы во многих районах Республики Дагестан в результате принятых комплексных организационно-хозяйственных и ветеринарно-санитарных мер достигнуты определенные успехи в ликвидации и профилактике туберкулеза крупного рогатого скота. Прослеживается тенденция к улучшению санитарной культуры в животноводстве, увеличилось количество и качество диагностических исследований, осуществляются своевременная изоляция и сдача на убой больного скота. Вместе с тем туберкулез крупного рогатого скота в некоторых районах республики все еще представляет серьезную угрозу животноводству и опасность для здоровья людей [1, 2].

Проведенные ранее комплексные исследования по изучению эпизоотической ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота во всех природно-климатических зонах республики показали наибольшую распространенность заболевания в хозяйствах равнинной зоны и устойчивую тенденцию к росту удельного веса инфекции вследствие принципиально отличающихся по набору факторов, снижающих иммунобиологический статус животных. Из 26 выявленных за последние годы в республике неблагополучных пунктов только три находились в горной зоне. Объясняется это не устойчивостью к туберкулезу местного скота, а тем, что, из-за малых размеров ферм в горных районах, в них ограничен ввоз кормов и контакт между животными, в том числе с частных подворий. Другими факторами являются наличие обильной растительности альпийских и субальпийских лугов, значительный уровень солнечного излучения и аэрации, большой размер пастбищ и т. д. [1–5].

Результаты исследования свидетельствуют о том, что возникновение новых неблагополучных пунктов обусловлено различными причинами: завозом инфицированного ремонтного молодняка, кормлением необработанным молоком, объединением и перегруппировкой ремонтного молодняка и коров из различных по эпизоотическому состоянию ферм, длительной

передержкой в хозяйствах больных животных, проведением на недостаточном уровне ветеринарно-профилактических и организационно-хозяйственных мероприятий и др. [5–12].

Наряду с изучением различных путей заноса возбудителя инфекции значительный интерес представляют показатели интенсивности эпизоотического процесса и значимость влияния различных факторов на распространение туберкулеза. Эти данные имеют непосредственное отношение к организации профилактических мероприятий, выяснению вероятных сроков заноса патогена в хозяйство, а также оценке эффективности и достоверности проводимых диагностических исследований [13–17].

Интенсивность перезаражения крупного рогатого скота в неблагополучных пунктах зависит в основном от качества кормления и условий содержания. Грубые нарушения зоогигиенических параметров, микро- и макроклимата, несбалансированный рацион приводят к снижению индивидуальной резистентности макроорганизма, способствуют передаче возбудителя от одного животного к другому и сокращению инкубационного периода [18–23].

В этом плане представляет определенный интерес большая группа родственных к микобактериям транзитных нетуберкулезных кислотоустойчивых микобактерий и микобактериоподобных микроорганизмов, имеющих широкое распространение в природе и характеризующихся высоким уровнем неприхотливости к условиям окружающей среды и устойчивостью. В данных условиях допустимо, что заражение крупного рогатого скота нетуберкулезными микроорганизмами происходит с частотой не меньшей, чем инфицирование вызывающими туберкулез патогенами, что в итоге выражается в сенсibilизации организма к ППД-туберкулину для млекопитающих – получении ложноположительных результатов из-за низкой специфичности используемых диагностических тестов [1, 2, 24–27].

В целом проблемой диагностики туберкулеза, в том числе и в Дагестане, являются неспецифические

реакции на туберкулин. Часто выявляются реагирующие животные и среди скота, приобретенного за пределами республики [1, 2, 7].

В этой связи целью работы явилось получение дополнительных данных о ситуации по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Дагестан и причинах неспецифической сенсибилизации к ППД-туберкулину для млекопитающих.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Всего с 2014 по 2019 г. аллергическим исследованиям подвергнуто 2944 телки случного возраста. Для патолого-анатомического осмотра произведен вынужденный убой гуманитарным способом 1166 гол. Из патологического материала, полученного из 67 хозяйств, изолирована 291 культура микобактерий. Идентификацию и дифференциацию 104 культур проводили в соответствии с классификацией по Раньону.

Постановку внутрикожной туберкулиновой пробы, патолого-анатомические исследования убитых с диагностической целью животных и лабораторные исследования патологического материала проводили в соответствии с «Наставлением по диагностике туберкулеза животных» (2002)¹. В работе использовали туберкулин для млекопитающих производства ФКП «Курская биофабрика» (Россия), который вводили внутрикожно посредством безыгольного инъектора БИ-7 (ОАО «МИЗ-Ворсма», Россия). Учет и оценку реакций проводили через 72 ч после введения путем измерения толщины кожной складки кутиметром. Реагирующими считали животных с увеличением кожной складки на 3 мм и более в сравнении со здоровым участком [3, 5, 11].

При проведении симультанной пробы одновременно с ППД-туберкулином для млекопитающих использовали комплексный аллерген из атипичных микобактерий (КАМ). Результаты учитывали по интенсивности ответных реакций на туберкулин и КАМ. Более интенсивная реакция на туберкулин указывала на гомологичное заражение.

При патолого-анатомическом осмотре обращали внимание на локализацию и величину гранулем (туберкулов), характер воспаления в лимфатических узлах, сосудах и окружающих туберкулы капсулах. Определяли цвет некроза, плотность соединения с окружающей капсулой, состояние внутренней поверхности капсулы, устанавливали консистенцию содержимого узелка на разрезе. Длительное неблагополучие хозяйств по туберкулезу выявляли при обнаружении очаговых катаральных и катарально-гнойных воспалений в легких крупного рогатого скота. Обширные изменения в легких в виде лобулярной и лобарной пневмонии со множественными некрозами, наравне с лимфаденом бронхальных и портальных лимфатических узлов, свидетельствовали о запущенном туберкулезу.

Изолированные микобактерии идентифицировали в соответствии с ГОСТ 26072-89 (СТ СЭВ 3457-81) «Животные и птица сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики туберкулеза»² и ГОСТ 27318-87 (СТ СЭВ 5627-86) «Животные сельскохозяйственные. Методы идентификации атипичных микобактерий»³.

Материалом для лабораторного исследования служили лимфатические узлы (околоушные, подчелюстные, предлопаточные, бронхиальные, портальные, надвыменные). Предпосевную обработку биоматериала проводили по методу Гона – Левенштейна – Сумиоши с экспозицией воздействия кислоты в течение 30 мин.

Первичную идентификацию проводили с учетом культуральных признаков: скорости роста колоний на плотных питательных средах, цвета колоний, пигментообразования и морфологии колоний.

Посев материала на поверхность кровяного агар производили, рассеивая 2–4 капли суспензий со среды Левенштейна – Йенсена. Далее чашки с кровяным агаром помещали в термостат при температуре 37 °C в аэробных условиях. Результаты учитывали визуально через 24–48 ч инкубации.

Подтверждение принадлежности выделенной культуры к *Mycobacterium tuberculosis complex* и нетуберкулезным кислотоустойчивым микобактериям проводили на основании специальных лабораторных и традиционных фенотипических, микроскопических и узких биохимических методов. Из биохимических методов использовали ниациновый, нитратредуктазный тесты и тест на наличие термостабильной каталазы [28].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Аллергические исследования на туберкулез 2944 телок случного возраста, завезенных в 2014–2019 гг., показали, что в некоторых группах реагировало до 30% животных. Реакции у отдельных животных сохранялись до года, наблюдались чередования исчезновения и возникновения аллергических реакций на туберкулин.

В одном из хозяйств из приобретенных 136 гол. к концу карантина у 29 была отмечена положительная реакция. Эти животные через 40 дней были исследованы симультанно, при этом положительно реагировало 20, из них 13 – повторно. При контрольном убое трех животных патолого-анатомические изменения, свойственные туберкулезу, не обнаружены. Результат бактериологических исследований убитых с диагностической целью животных был отрицательным. Через 45 дней животных исследовали повторно, реакции сохранились только у пяти. Очередное обследование проводили через 6 месяцев, у всех ранее реагировавших животных реакции отсутствовали, напротив, у 43 нереагировавших до этого особей регистрировали положительные реакции на введение туберкулина.

Аналогичное положение наблюдалось и в других хозяйствах, которые приобрели улучшенных или племенных телок.

За 2014 г. с диагностической целью из числа завезенных животных было убито 28, ни в одном случае туберкулез не установлен, но поступившие в хозяйства животные продолжали реагировать на введение туберкулина.

Для уточнения результатов аллергических исследований в 2014–2019 гг. контрольному убое подвергнуто 1166 гол. При этом были обнаружены туберкулезные поражения в лимфатических узлах (заглоточных, бронхальных, средостенных, подчелюстных), а также генерализация процесса с охватом паренхиматозных органов у 326 животных, что составило 28,0% (табл.).

По результатам анализов выявили тенденцию к снижению совпадений результатов аллергических исследова-

¹ <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293744/4293744181.pdf>.

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

³ <https://base.garant.ru/5917269>.

Таблица

Результаты патолого-анатомических и бактериологических исследований на туберкулез

Table

Results of post-mortem and bacteriological tests for tuberculosis

Годы	Убито	Выявлено	%	Исследовано проб	Выделено культур			Исследовано из атипичных	Группа по Раньону			
					всего	в том числе			I	II	III	IV
						<i>Mycobacterium bovis</i>	атипичные					
2014	122	94	77,0	15	10	10	—	—	—	—	—	
2015	115	47	40,9	11	7	3	4	—	—	—	—	
2016	165	59	35,8	167	105	24	81	55	—	22	1	32
2017	348	91	26,1	195	105	50	55	26	—	17	1	8
2018	243	19	7,8	116	48	11	37	16	—	12	1	3
2019	173	16	9,2	150	16	9	7	7	—	1	1	5
Итого	1166	326	28,0	654	291	107	184	104	—	52	4	48

дований с патолого-анатомическими. Так, при контрольных исследованиях реагирующего на туберкулин крупного рогатого скота в 2014 г. выявлены туберкулезные поражения у 77,0% особей. В 2019 г. благодаря целенаправленным действиям, включающим поддержку скота в изоляторах, работу по принципу предприятий закрытого типа, комплектование стад здоровыми животными и осуществление предусмотренных нормативными документами ветеринарно-санитарных мероприятий, доля больных животных с туберкулезными поражениями снизилась до 9,2%.

При проведении лабораторных исследований патологического материала от вынужденно убитых животных из 67 хозяйств удалось изолировать 291 культуру микобактерий. При их дифференциации к *Mycobacterium bovis* отнесено 107 культур в 31 хозяйстве, к атипичным микобактериям принадлежали 184 выделенные культуры в 36 хозяйствах. В 15 хозяйствах одновременно с *Mycobacterium bovis* выделялись и атипичные микобактерии.

В ряде хозяйств, несмотря на значительное количество реагирующих на туберкулин животных, патолого-анатомическими и бактериологическими исследованиями туберкулез не установлен. В большинстве случаев из патологического материала данных животных изолированы атипичные микобактерии.

Из 104 культур атипичных микобактерий, подвергнутых дифференциации по классификации Раньона, 52 отнесены ко второй (скотохромогенные), 4 – к третьей (нефотокхромогенные) и 48 – к четвертой (быстрорастущей) группам (рис. 1).

На территории Дагестана частыми являются случаи выявления реагирующего на туберкулин крупного рогатого скота без видимых патологических изменений во внутренних органах. Изолирование таких животных не приводит к прекращению обнаружения новых особей с положительной аллергической реакцией. Поэтому наблюдаемое явление вызывает интерес и является причиной его всестороннего изучения.

По данным различных источников, при проведении лабораторных исследований биоматериала от таких

животных нередко изолируют атипичные микобактерии, относящиеся к четвертой группе по классификации Раньона – *Mycobacterium fortuitum* и *Mycobacterium chelonae*, которые могут являться потенциально патогенными как для животных, так и для человека.

В то же время сенсibilизирующая и патогенетическая роли быстрорастущих микроорганизмов для крупного рогатого скота остаются малоизученными и спорными. В связи с этим при оценке эпизоотического состояния по туберкулезу необходимо уделять особое внимание идентификации выделяемых микобактерий, в том числе и атипичных, поскольку видовая принадлежность имеет большое практическое и теоретическое значение для успешного проведения мероприятий по профилактике и оздоровлению хозяйств от туберкулеза.

Нетуберкулезные кислотоустойчивые микобактерии по ряду признаков имеют сходство с истинными возбудителями туберкулеза (морфология, тинкториальные свойства, кислото-, спирто- и щелочеустойчивость), но вместе с тем обладают рядом свойств, близких сапрофитным микобактериям (форма колоний, скорость роста, ферментативная активность, лекарственная устойчивость).

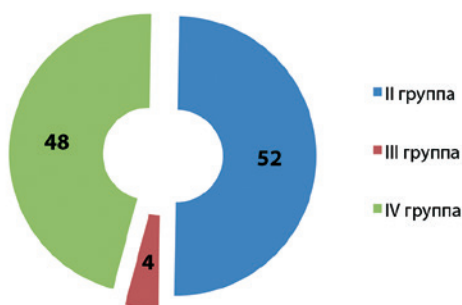


Рис. 1. Принадлежность выделенных атипичных микобактерий к различным группам по классификации Раньона

Fig. 1. Grouping of isolated atypical mycobacteria based on Runyon classification

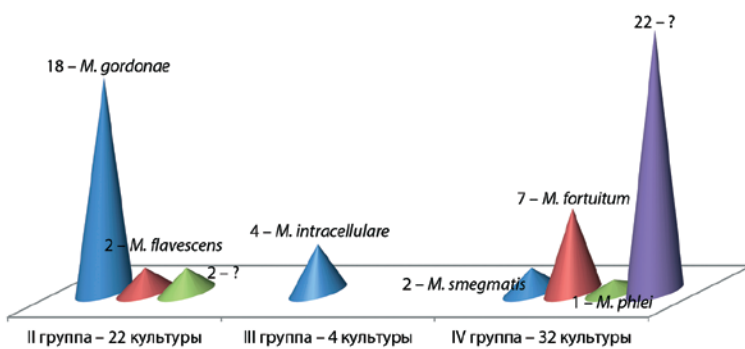


Рис. 2. Видовая дифференциация атипичных микобактерий

Fig. 2 Species differentiation of atypical mycobacteria

С целью дифференциации до вида внутри групп более детальному исследованию подвергнуто 58 культур.

В результате из 22 культур второй группы 18 отнесены к *Mycobacterium gordonae*, 2 – к *Mycobacterium flavescens*, у двух видовую принадлежность установить не удалось.

Установлено, что все 4 культуры третьей группы являются представителями вида *Mycobacterium intracellulare*.

Из 32 культур четвертой группы 2 отнесены к *Mycobacterium smegmatis*, 7 – к *Mycobacterium fortuitum* и 1 – к *Mycobacterium phlei*, у 22 культур вид не установлен (рис. 2).

Полученные данные отражают высокую видовую гетерогенность атипичных микобактерий в организме реагирующего на туберкулин крупного рогатого скота.

Их всех взятых в исследование культур видовую принадлежность удалось установить у 34, что составляет 58,6%.

По результатам количественного распределения наибольшее число идентифицированных видов отнесено ко второй группе. Возможно, они могут играть существенную роль в сенсибилизации крупного рогатого скота к ППД-туберкулину для млекопитающих, но для подтверждения коррелятивной связи между видовой принадлежностью и сенсибилизацией необходимы дальнейшие исследования с использованием большего числа штаммов.

Анализ распределения идентифицированных видов показал, что наиболее разнообразный видовой пейзаж атипичных микобактерий, изолированных из патматериала от реагирующих на туберкулин животных, отмечался у представителей четвертой группы, что является экспериментальным подтверждением многочисленных литературных данных. Вместе с этим, если учесть, что идентифицировать в этой группе удалось только 31,3% культур (10 из 32), становится очевидным, что представители данной группы приобретают особое значение в сенсибилизации макроорганизма к туберкулину.

В целом полученные данные явились базисной основой для дальнейшего динамического слежения за циркуляцией нетуберкулезных кислотоустойчивых микроорганизмов в биоматериале для оптимизации дифференциально-диагностических мероприятий при туберкулезе крупного рогатого скота.

Для выяснения роли молока в эпизоотологии туберкулеза было исследовано 82 пробы от реагирующих на

туберкулин животных двух хозяйств, в одном из которых заболевание получило широкое распространение в связи с запоздалой диагностикой, во втором – туберкулез был выявлен недавно.

В первом хозяйстве, где реагирующие на туберкулин животные передерживались длительный период, микобактерии в молоке выявляли в 20% случаев, во втором – доля обнаружения составляла 4%, что говорит о большой опасности длительной передержки животных с положительной аллергической реакцией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные дают основание считать, что выявляемые в процессе диагностики парааллергические реакции обусловлены наличием в организме животных атипичных микобактерий указанных групп и видов, которые, по-видимому, обуславливают сенсибилизацию организма к туберкулину.

Результаты видовой дифференциации не позволили сформировать определенную группу видов атипичных микобактерий, обладающих повышенной сенсибилизирующей к туберкулину активностью.

Выделение чистых культур микобактерий из патологического материала от животных и их идентификация должно проводиться в неразрывной связи с обнаружением аллергических реакций на туберкулин.

В связи со сложной, противоречивой эпизоотической обстановкой по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Дагестан был составлен комплексный план противотуберкулезных мероприятий. При этом основное внимание уделено охране благополучных хозяйств от заноса в них туберкулеза, своевременному и полному выявлению и выводу с ферм больных и реагирующих на туберкулин животных, проведению мероприятий по уничтожению возбудителя во внешней среде и выращиванию здорового молодняка для замены больного поголовья. Усилена диагностическая работа в благополучных и озадачиваемых хозяйствах, которые взяты под ветеринарный контроль.

Выполнение противотуберкулезных мероприятий своевременно и в полном объеме позволит достигнуть положительных результатов в борьбе с данной болезнью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баратов М. О. К совершенствованию диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2020; (4): 261–265. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-4-35-261-265.
2. Баратов М. О., Сакидбириков О. П. Туберкулез крупного рогатого скота в Республике Дагестан: проблемы и перспективы. *Ветеринария*. 2021; 1: 24–28. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.1.24-28.
3. Найманов А. Х., Калмыков В. М. Туберкулез животных: монография. Санкт-Петербург: Лань; 2021. 504 с.
4. Власенко В. С. Оптимизация методов контроля и коррекции иммунного статуса при туберкулезе и лейкозе крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Казань; 2011. 43 с. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01004849018?page=1&rotate=0&theme=white>.
5. Донченко Н. А. Усовершенствование средств и методов диагностики и профилактики туберкулеза крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Новосибирск; 2008. 36 с. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01003168339?page=1&rotate=0&theme=white>.
6. Grebennikova T. V., Nepoklonov E. A. Detection and identification of *Mycobacteria* isolates from human clinical samples. 9th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Berlin; March 21–24, 1999; 204.
7. Баратов М. О., Гусейнова П. С. К поиску причин сенсибилизации крупного рогатого скота к ППД-туберкулину для млекопитающих. *Ветеринария сегодня*. 2021; (4): 271–276. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-271-276.

8. Шенжанов К. Т. Биотехнологические основы совершенствования диагностики туберкулеза. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2: 137–138. eLIBRARY ID: 9165660.
9. Thoen C. O., Hall M. R., Tannis A., Petersburg B. S., Harrington R. Detection of mycobacterial antibodies in sera of cattle experimentally exposed to *Mycobacterium bovis* by use of a modified enzyme-linked immunosorbent assay. *Proceedings of Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians*. 1984; 26: 25–38.
10. Муковнин А. А., Найманов А. Х., Гулюкин А. М. Туберкулез крупного рогатого скота в России. *Ветеринария*. 2020; 7: 19–24. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.7.19-24.
11. Мингалева Д. Н. Новые средства и методы профилактики туберкулеза молодняка крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Казань; 2018. 42 с. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01008706808?page=1&rotate=0&theme=white>.
12. Wood P. R., Rothel J. S. *In vitro* immunodiagnostic assays for bovine tuberculosis. *Vet. Microbiol.* 1994; 40 (1–2): 125–135. DOI: 10.1016/0378-1135(94)90051-5.
13. Гаврилова Г. А., Макаров Ю. А., Васильченко Г. А. Аллергические туберкулиновые реакции у животных, инфицированных вирусом лейкоза. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2: 156–159. eLIBRARY ID: 9165668.
14. Камалиева Ю. Р. Ретроспективный анализ частоты проявления неспецифических реакций на туберкулин у крупного рогатого скота в Республике Татарстан. *Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК: материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи, посвященной 90-летию образования казанской зоотехнической школы*. Казань: Казанская ГАВМ; 2020; 1: 278–280. eLIBRARY ID: 43921944.
15. Бокова Т. В. Частота неспецифического реагирования на ППД-туберкулин крупного рогатого скота, инфицированного BVL, и разработка схем оздоровления племенных стад от лейкоза в Алтайском крае: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Барнаул; 2001. 27 с.
16. Джупина С. И. Фундаментальные знания эпизоотического процесса – основа контроля туберкулеза крупного рогатого скота. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2: 45–47. eLIBRARY ID: 9165623.
17. Донченко А. С., Донченко Н. А., Колосов А. А. Дифференциальная диагностика туберкулиновых реакций в благополучных по туберкулезу хозяйствах: методические рекомендации. Новосибирск; 2002. 7 с.
18. Ионина С. В., Донченко Н. А., Донченко А. С. Взаимосвязь циркуляции атипичных микобактерий туберкулеза во внешней среде с проявлением туберкулиновых реакций у сельскохозяйственных животных. *Инновация и продовольственная безопасность*. 2016; (1): 41–44. DOI: 10.31677/2311-0651-2016-0-1-41-44.
19. Дубовой Б. Л., Полякова О. Н. Исследования специфичности и активности РСПЛ при диагностике туберкулеза крупного рогатого скота. *Инновационный путь развития АПК – магистральное направление научных исследований для сельского хозяйства: материалы Международной научно-практической конференции*. пос. Персиановский, Ростовская обл.: ФГОУ ВПО ДонГАУ; 2007; 67–69.
20. Кошкин И. Н., Власенко В. С., Бажин М. А. Функциональная активность нейтрофилов у морских свинок, иммунизированных конъюгатами на основе антигенов БЦЖ с бетулином и его производными. *Вестник КрасГАУ*. 2021; 5: 116–121. DOI: 10.36718/1819-4036-2021-5-116-121.
21. Протодьяконова Г. П. Эпизоотологические и эпидемиологические особенности туберкулеза в Якутии, усовершенствование методов диагностики и специфической профилактики: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Новосибирск; 2015. 35 с. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01005562709?page=1&rotate=0&theme=white>.
22. Skinner M. A., Buddle B. M., Wedlock D. N., Keen D., de Lisle G. W., Tascon R. E., et al. A DNA prime-*Mycobacterium bovis* BCG boost vaccination strategy for cattle induces protection against bovine tuberculosis. *Infect. Immun.* 2003; 71 (9): 4901–4907. DOI: 10.1128/IAI.71.9.4901-4907.2003.
23. Dean G., Whelan A., Clifford D., Salguero F. J., Xing Z., Gilbert S., et al. Comparison of the immunogenicity and protection against bovine tuberculosis following immunization by BCG-priming and boosting with adenovirus or protein based vaccines. *Vaccine*. 2014; 32 (11): 1304–1310. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.11.045.
24. Wedlock D. N., Denis M., Painter G. F., Ainge G. D., Vordermeier H. M., Hewinson R. G., Buddle B. M. Enhanced protection against bovine tuberculosis after coadministration of *Mycobacterium bovis* BCG with a mycobacterial protein vaccine-adjuvant combination but not after coadministration of adjuvant alone. *Clin. Vaccine Immunol.* 2008; 15 (5): 765–772. DOI: 10.1128/CVI.00034-08.
25. Harriff M. J., Cansler M. E., Toren K. G., Canfield E. T., Kwak S., Gold M. C., Lewinsohn D. M. Human lung epithelial cells contain *Mycobacterium tuberculosis* in a late endosomal vacuole and are efficiently recognized by CD8⁺ T cells. *PLoS One*. 2014; 9 (5): e97515. DOI: 10.1371/journal.pone.0097515.
26. Monin L., Griffiths K. L., Slight S., Lin Y., Rangel-Moreno J., Khader S. A. Immune requirements for protective Th17 recall responses to *Mycobacterium tuberculosis* challenge. *Mucosal Immunol.* 2015; 8 (5): 1099–1109. DOI: 10.1038/mi.2014.136.
27. Khan A., Singh V. K., Hunter R. L., Jagannath C. Macrophage heterogeneity and plasticity in tuberculosis. *J. Leukoc. Biol.* 2019; 106 (2): 275–282. DOI: 10.1002/JLB.MR0318-095RR.
28. Лабораторная диагностика туберкулеза. Методические материалы к проведению цикла тематического усовершенствования. Под ред. В. В. Ерохина. М.: РВалент; 2012. 704 с.

REFERENCES

1. Bararov M. O. Improvement of bovine tuberculosis diagnosis. *Veterinary Science Today*. 2020; (4): 261–265. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-4-35-261-265.
2. Bararov M. O., Sakidibirov O. P. Cattle tuberculosis in Dagestan Republic: problems and prospects. *Veterinariya*. 2021; 1: 24–28. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.1.24-28. (in Russ.)
3. Naimanov A. Kh., Kalmykov V. M. Tuberculosis of animals: monography. Saint Petersburg: Lan'; 2021. 504 p. (in Russ.)
4. Vlasenko V. S. Optimizatsiya metodov kontrolya i korrektsii immuno-go statusa pri tuberkuleze i leikoze krupnogo rogatogo skota = Optimization of immunity control and correction methods during bovine tuberculosis and leucosis: thesis abstract ... Doctor of Biological Sciences. Kazan; 2011. 43 p. Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01004849018?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
5. Donchenko N. A. Usovershenstvovanie sredstv i metodov diagnostiki i profilaktiki tuberkuleza krupnogo rogatogo skota = Improvement of bovine tuberculosis diagnosis and prevention tools and methods: thesis abstract ... Doctor of Veterinary Sciences. Novosibirsk; 2008. 36 p. Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01003168339?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
6. Grebennikova T. V., Nepoklonov E. A. Detection and identification of Mycobacteria isolates from human clinical samples. *9th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)*. Berlin; March 21–24, 1999; 204.
7. Bararov M. O., Huseynova P. S. More on search for causes of sensitization to tuberculin PPD for mammals in cattle. *Veterinary Science Today*. 2021; (4): 271–276. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-271-276.
8. Shenzhanov K. T. Biotechnologicheskie osnovy sovershenstvovaniya diagnostiki tuberkuleza = Biotechnological principles of tuberculosis diagnosis improvement. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 1–2: 137–138. eLIBRARY ID: 9165660. (in Russ.)
9. Thoen C. O., Hall M. R., Tannis A., Petersburg B. S., Harrington R. Detection of mycobacterial antibodies in sera of cattle experimentally exposed to *Mycobacterium bovis* by use of a modified enzyme-linked immunosorbent assay. *Proceedings of Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians*. 1984; 26: 25–38.
10. Mukovnin A. A., Naimanov A. H., Gulukin A. M. Bovine tuberculosis in the Russian Federation. *Veterinariya*. 2020; 7: 19–24. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.7.19-24. (in Russ.)
11. Mingaleev D. N. Novye sredstva i metody profilaktiki tuberkuleza molodnyaka krupnogo rogatogo skota = Novel tools and methods of bovine tuberculosis prevention in young animals: thesis abstract ... Doctor of Veterinary Sciences. Kazan; 2018. 42 p. Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01008706808?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
12. Wood P. R., Rothel J. S. *In vitro* immunodiagnostic assays for bovine tuberculosis. *Vet. Microbiol.* 1994; 40 (1–2): 125–135. DOI: 10.1016/0378-1135(94)90051-5.
13. Gavrilo G. A., Makarov Yu. A., Vasil'chenko G. A. Allergicheskie tuberkulinovye reaktsii u zhivotnykh, infitsirovannykh virusom leikoza = Tuberculin allergic reactions in animals infected with bovine leukemia virus. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 1–2: 156–159. eLIBRARY ID: 9165668. (in Russ.)
14. Kamaliev Yu. R. Retrospective analysis of frequency of the occurrence of non-specific reactions to tuberculin in cattle in the Republic of Tatarstan. *Molodezhnye razrabotki i innovatsii v reshenii prioritnykh zadach APK: materialy Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii studentov, aspirantov i uchashchiesya molodezhi, posvyashchennoi 90-letiyu obrazovaniya kazanskoi zootekhnicheskoi shkoly* = Young scientists' development and innovations to solve priority agrarian tasks: proceedings of the International scientific conference of students, post-graduate students and studying youth, devoted to 90th anniversary of Kazan animal science. Kazan: Kazan SAVM; 2020; 1: 278–280. eLIBRARY ID: 43921944. (in Russ.)
15. Bokova T. V. Chastota nespetsificheskogo reagirovaniya na PPD-tuberkulin krupnogo rogatogo skota, infitsirovannogo BVL, i razrabotka skhem ozdorovleniya plemennykh stad ot leikoza v Altaiskom krae = Frequency of non-specific reactions to PPD tuberculin in BVL infected cattle, and development of leucosis eradication programmes for breeding herds in the Altay Krai: thesis abstract ... Doctor of Veterinary Sciences. Barnaul; 2001. 27 p. (in Russ.)

16. Dzhupina S. I. Fundamental'nye znaniya epizooticheskogo protsesa – osnova kontrolya tuberkuleza krupnogo rogatogo skota = Fundamental knowledge of the epidemic process – the basis of bovine tuberculosis control. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 1–2: 45–47. eLIBRARY ID: 9165623. (in Russ.)
17. Donchenko A. S., Donchenko N. A., Kolosov A. A. Differential diagnosis of tuberculin reactions in tuberculosis-free farms: guidelines. Novosibirsk; 2002. 7 p. (in Russ.)
18. Ionina S. V., Donchenko N. A., Donchenko A. S. The relationship between the circulation of atypical mycobacteria in the environment with the manifestation of tuberculin reactions in selskhozaystvennikh. *Innovations and Food Safety*. 2016; (1): 41–44. DOI: 10.31677/2311-0651-2016-0-1-41-44. (in Russ.)
19. Dubovoi B. L., Polyakova O. N. Issledovaniya spetsifichnosti i aktivnosti RSLI pri diagnostike tuberkuleza krupnogo rogatogo skota = Studies of specificity and performance of specific leukocyte lysis method for bovine tuberculosis diagnosis. *Innovatsionnyi put' razvitiya APK – magistratsionnoye napravlenie nauchnykh issledovaniy dlya sel'skogo khozyaystva: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Innovative trend in agrarian industry development – mainstreams of agricultural research: proceedings of the International scientific and practical conference*. pos. Persyanovskii, Rostov Oblast: FSEI VPO Don SAU; 2007; 67–69. (in Russ.)
20. Koshkin I. N., Vlasenko V. S., Bazhin M. A. Functional activity of neutrophils in guinea pigs, immunized with conjugates, based on BCG antigens with betulin and its derivatives. *Bulliten KrasSAU*. 2021; 5: 116–121. DOI: 10.36718/1819-4036-2021-5-116-121. (in Russ.)
21. Protod'yakonova G. P. Epizootologicheskie i epidemiologicheskie osobennosti tuberkuleza v Yakutii, usovershenstvovanie metodov diagnostiki i spetsificheskoi profilaktiki = Epizootological and epidemiological peculiarities of tuberculosis in Yakutia, improvement of diagnosis and prevention methods: thesis abstract ... Doctor of Veterinary Sciences. Novosibirsk; 2015. 35 p. Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01005562709?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
22. Skinner M. A., Buddle B. M., Wedlock D. N., Keen D., de Lisle G. W., Tascon R. E., et al. A DNA prime-*Mycobacterium bovis* BCG boost vaccination strategy for cattle induces protection against bovine tuberculosis. *Infect. Immun.* 2003; 71 (9): 4901–4907. DOI: 10.1128/IAI.71.9.4901-4907.2003.
23. Dean G., Whelan A., Clifford D., Salguero F. J., Xing Z., Gilbert S., et al. Comparison of the immunogenicity and protection against bovine tuberculosis following immunization by BCG-priming and boosting with adenovirus or protein based vaccines. *Vaccine*. 2014; 32 (11): 1304–1310. DOI: 10.1016/j.vaccine.2013.11.045.
24. Wedlock D. N., Denis M., Painter G. F., Ainge G. D., Vordermeier H. M., Hewinson R. G., Buddle B. M. Enhanced protection against bovine tuberculosis after coadministration of *Mycobacterium bovis* BCG with a mycobacterial protein vaccine-adjuvant combination but not after coadministration of adjuvant alone. *Clin. Vaccine Immunol.* 2008; 15 (5): 765–772. DOI: 10.1128/CVI.00034-08.
25. Harrieff M. J., Cansler M. E., Toren K. G., Canfield E. T., Kwak S., Gold M. C., Lewinsohn D. M. Human lung epithelial cells contain *Mycobacterium tuberculosis* in a late endosomal vacuole and are efficiently recognized by CD8⁺ T cells. *PLoS One*. 2014; 9 (5): e97515. DOI: 10.1371/journal.pone.0097515.
26. Monin L., Griffiths K. L., Slight S., Lin Y., Rangel-Moreno J., Khader S. A. Immune requirements for protective Th17 recall responses to *Mycobacterium tuberculosis* challenge. *Mucosal Immunol.* 2015; 8 (5): 1099–1109. DOI: 10.1038/mi.2014.136.
27. Khan A., Singh V. K., Hunter R. L., Jagannath C. Macrophage heterogeneity and plasticity in tuberculosis. *J. Leukoc. Biol.* 2019; 106 (2): 275–282. DOI: 10.1002/JLB.MR0318-095RR.
28. Laboratory diagnosis of TB. Methodical materials for thematic improvement cycle. Ed. by V. V. Erokhin. Moscow: R.Valent; 2012. 704 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 13.04.2022
 Поступила после рецензирования / Revised 28.04.2022
 Принята к публикации / Accepted 02.06.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

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

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

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



Классическая чума свиней: ретроспективный анализ эпизоотической ситуации в Российской Федерации (2007–2021 гг.) и прогноз на 2022 г.

А. С. Оганесян¹, А. А. Шевцов², А. В. Щербаков³, Ф. И. Коренной⁴, А. К. Караулов⁵

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-0061-5799>, e-mail: oganesyan@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-2555-6043>, e-mail: shevcov@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-8326-4201>, e-mail: ascherbakov@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-7378-3531>, e-mail: korennoy@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-5731-5762>, e-mail: karaulov@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Представлена тенденция развития эпизоотической ситуации по классической чуме свиней в Российской Федерации в 2007–2021 гг. Констатируется факт территориального смещения в 2015–2021 гг. очагов инфекции из европейской части России в восточные, приграничные с Китаем регионы в популяцию дикого кабана и усиления вакцинопрофилактики в домашней популяции в последние годы, что, вероятнее всего, было определяющим в снижении количества очагов классической чумы свиней на всей территории страны. Основные особенности заноса и распространения инфекции в Российской Федерации с большей вероятностью связаны с внутренними факторами риска (качество исполнения противоэпизоотических мероприятий, главным образом вакцинации) и территориями циркуляции вируса среди диких кабанов. К числу факторов, способствующих снижению числа регистрируемых клинических случаев классической чумы свиней в популяции домашних свиней Российской Федерации, можно отнести прирост с 2011 г. объемов вакцинации. Тренд неблагополучия в популяции домашних свиней остается ниспадающим. Тенденции развития эпизоотической ситуации по классической чуме свиней на территории Российской Федерации в популяциях домашних и диких свиней и объемы применения вакцин для целей анализа были визуализированы в относительных величинах, учитывающих общую численность поголовья свиней в стране, которые использовали для построения регрессионной модели. На основе анализа дан прогноз на 2022 г. в условиях сохранения выбранной в стране стратегии борьбы с заболеванием. Вакцинация против классической чумы свиней в Российской Федерации и ее качество на данный момент остается определяющим фактором сдерживания распространения эпизоотии на территории страны.

Ключевые слова: классическая чума свиней, Российская Федерация, эпизоотическая ситуация, ретроспективный анализ, вакцинация

Благодарности: Исследование проведено за счет средств федерального бюджета в рамках государственного задания по теме «Оценка эпизоотической ситуации субпопуляций восприимчивых животных в субъектах Российской Федерации для подтверждения их благополучия по статусным инфекциям в соответствии с требованиями МЭБ и подготовка прогнозов возможного заноса и распространения трансграничных болезней животных с использованием методов моделирования и прогнозирования».

Для цитирования: Оганесян А. С., Шевцов А. А., Щербаков А. В., Коренной Ф. И., Караулов А. К. Классическая чума свиней: ретроспективный анализ эпизоотической ситуации в Российской Федерации (2007–2021 гг.) и прогноз на 2022 г. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 229–238. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-229-238.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Оганесян Андрей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: oganesyan@arriah.ru.

Classical swine fever: a retrospective analysis of the epizootic situation in the Russian Federation (2007–2021) and forecast for 2022

A. S. Oganetsyan¹, A. A. Shevtsov², A. V. Shcherbakov³, F. I. Korennoy⁴, A. K. Karaulov⁵

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-0061-5799>, e-mail: oganesyan@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-2555-6043>, e-mail: shevcov@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-8326-4201>, e-mail: ascherbakov@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-7378-3531>, e-mail: korennoy@arriah.ru⁵ <https://orcid.org/0000-0002-5731-5762>, e-mail: karaulov@arriah.ru

SUMMARY

The paper presents trends in the epizootic situation on classical swine fever (CSF) in the Russian Federation, for 2007–2021. Most likely, a drop in the number of CSF outbreaks throughout the country results from two factors: a geographical shift of the disease outbreaks from the European part of Russia to the eastern regions bordering on China (into the wild boar population), as documented between 2015 and 2021, and a large-scale vaccination of domestic pigs practiced in the recent years. The introduction and spread of CSF in the Russian Federation are, most likely, associated with the internal risk factors (i.e. quality of anti-epizootic measures, mainly vaccination) and with the territories, where the virus circulates in wild boars. Expansion of vaccination coverage since 2011 is one of the factors contributing to a decrease in the number of clinical CSF cases registered in domestic pigs of the Russian Federation. The infection spread in domestic pigs is still on a downward trend. For purposes of analysis, current trends of CSF spread in domestic pigs and wild boars in the Russian Federation, as well as the volume of the vaccine used, were visualized in relative numbers (taking into account total number of pigs in the country) used to build a regression model. Currently, vaccination against classical swine fever in the Russian Federation (and its good quality) is an essential prerequisite to contain the infection spread in the country.

Keywords: classical swine fever, the Russian Federation, epizootic situation, retrospective analysis, vaccination

Acknowledgements: The research was financed from the federal budget in the framework of the State Assignment on “Assessing epizootic situation in subpopulations of susceptible animals in the RF Subjects with the aim to confirm their freedom from status infections according to the WOA requirements; and forecasting potential introduction and spread of transboundary animal diseases with modelling and prediction techniques”.

For citation: Oganessian A. S., Shevtsov A. A., Shcherbakov A. V., Korennoy F. I., Karaulov A. K. Classical swine fever: a retrospective analysis of the epizootic situation in the Russian Federation (2007–2021) and forecast for 2022. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 229–238. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-229-238.

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

For correspondence: Andrey S. Oganessian, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Sector, Information and Analysis Centre, FGBI “ARRIAH”, 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: oganessian@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Классическая чума свиней (КЧС) остается одной из наиболее серьезных трансграничных вирусных болезней свиней во всем мире. Возбудителем КЧС является РНК-вирус рода *Pestivirus* семейства *Flaviviridae* [1]. Выделяют три генотипа вируса КЧС с тремя-четырьмя субгенотипами, которые напрямую не коррелируют с вирулентностью. При этом важно отметить, что генетическое разнообразие не приводит к получению истинных серотипов и не влияет на эффективность вакцин [2, 3]. Широкий же спектр клинических признаков при КЧС (в том числе на фоне вакцинации) требует обязательного лабораторного подтверждения болезни. В большинстве стран мира с развитым свиноводством КЧС проявляется по крайней мере спорадически [4, 5].

Дикие кабаны являются резервуаром вируса, который способен длительное время циркулировать в зараженной популяции, что создает угрозу для слабозащищенных свиноферм и личных подсобных хозяйств. Подобную эндемичность можно предположить для отдельных стран Южной и Центральной Америки, некоторых частей Восточной Европы и Азии [2, 6, 7]. О ситуации в Африке известно не много [4, 5].

Стратегии борьбы со вспышками КЧС в благополучных странах в основном основаны на традиционных мерах управления вспышкой особо опасной болезни: карантин, уничтожение всех животных в инфицированном стаде, отслеживание возможных контактов, своевременная и надежная диагностика, установление зон ограничений, передвижения товаров, сопряженных с риском распространения вируса. При такой тактике иммунизация предполагается как возможный, но исключительно экстренный вариант мер, хотя на первом этапе на пути

к оздоровлению в благополучных по заболеванию на сегодня странах вакцинация также использовалась [2, 8]. Как рутинный вариант сдерживания болезни в популяции вакцины используются в эндемических по инфицированности вирусом КЧС регионах Азии, Восточной Европы, Америки и некоторых африканских странах [4, 8].

В России наблюдается снижение напряженности обстановки по КЧС [9] в домашней популяции на большей территории страны, что, вероятно, связано с массовой вакцинацией и усилением общих противоэпизоотических мер (пассивный надзор, компартиментализация, регионализация). В то же время, учитывая потенциал КЧС к быстрому территориальному, в том числе трансграничному распространению, целесообразным представляется ретроспективный анализ и обсуждение ожидаемого развития эпизоотической ситуации по КЧС на территории РФ с оценкой фактора неблагополучия популяции кабана и применения вакцинации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для анализа использовали данные информационной системы Всемирной организации здравоохранения животных (WAHIS) [5] и официальной ветеринарной отчетности ФГБУ «Центр ветеринарии».

Обработку информации проводили на основе методов описательной статистики, корреляционного и регрессионного анализа с использованием программы STATISTICA 10 (StatSoft, Inc., 2011).

Тренды развития эпизоотической ситуации по КЧС на территории РФ в популяциях домашних и диких свиней и объемы применения вакцин для целей анализа визуализировали за период с 2007 по 2020 г. в относительных величинах K1 и K2, учитывающих общую чис-

ленность поголовья свиней в стране, где K_1 – отношение числа вспышек в год к общему поголовью свиней (в млн гол.), а K_2 – отношение числа головообработок против КЧС (млн гол.) к общему поголовью свиней (в млн гол.). Величины K_1 и K_2 за 2011–2018 гг. использовали для построения регрессионной модели [10].

Расчет прогностических значений очагов КЧС на 2022 г. осуществляли на основе модели «пуассоновское случайное блуждание» с использованием распределения Пуассона. Вычисления проводили в программе @RISK с применением симуляционного метода Монте-Карло в 10 000 итерациях. В качестве анализируемого временного интервала был выбран период с 2010 по 2021 г.

Результаты анализа и прогноза представлены в виде обсуждения и заключения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эпизоотическая ситуация по классической чуме свиней в странах мира. Согласно официальным данным Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ) за 2021 г., только 38 стран на разных континентах являются официально благополучными по КЧС, а 3 страны имеют отдельные зоны благополучия. Сложную ситуацию по заболеванию регистрируют в азиатских и южноамериканских странах. Так, в Индонезии за 2017–2019 гг. зафиксировано более 300 вспышек КЧС, во Вьетнаме за тот же срок – более 150 вспышек, в Китае и Индии – более чем по 50 вспышек, в Непале – 18 вспышек, в Таиланде – 11 вспышек, на Кубе – более 230 вспышек, в Перу – 150 вспышек, в Эквадоре – 115 вспышек, в Колумбии – 25 вспышек, в Доминиканской Республике и на Гаити – по 11 вспышек [5].

Более четверти века Япония оставалась благополучной по КЧС без применения вакцинации. Однако в 2018 г. произошел занос вируса в популяцию диких свиней и инфекция получила широкое распространение. В следующем году по сравнению с предыдущим в Японии зафиксировано снижение числа вспышек с 1633 до 972 на фоне применения вакцин в дикой популяции [5, 11, 12].

В Южной Корее с 2017 г. отмечали стремительный рост числа сероположительных к вирусу КЧС кабанов, отловленных вблизи демилитаризованной зоны, расположенной на границе с Северной Кореей. Распространение КЧС у южнокорейских диких кабанов характеризовалось направленностью с запада на юго-восток под влиянием внешних факторов, включающих мелкую охоту, географические особенности и развитие сети автодорог. Занос инфекции в эту популяцию связали с эндемично циркулирующей инфекцией у кабанов на китайской территории [13].

В Колумбии за шесть лет (с 2013 по 2018 г.) в районе Атлантического побережья произошло 134 вспышки КЧС. Причиной первой из них стал незаконный ввоз в 2013 г. зараженных свиней из Венесуэлы, продиктованный разницей в ценах на свиней между двумя странами из-за социально-экономической ситуации в Венесуэле. Точно неизвестно о влиянии незаконного оборота свинины и животных между странами, однако конфискации полиции Колумбии 48,8 тонн свинины и 778 живых контрабандных свиней в департаментах Гуахира, Северный Сантандер, Араука, Сесар и столичном округе Богота в период с 2013 по 2018 г. подтверждает, что оценивать его как незначительный

нельзя. Большинство вспышек (95%) произошло в частных подворьях страны. Основными причинами заноса и распространения КЧС являлись ввоз инфицированных свиней (38%) и перемещение людей (37%) [14].

На протяжении десяти лет благополучной по КЧС оставалась Бразилия. В 2018 г. в страну был вновь занесен вирус КЧС и было зарегистрировано 38 вспышек заболевания среди домашних свиней, в 2019 г. зафиксировали еще 30 вспышек среди домашних свиней, за 10 месяцев 2020 г. было заявлено о 2 вспышках также среди домашних свиней. Однако за неимением точных данных трудно судить, что повлияло на такое развитие ситуации [15].

Ряд стран (преимущественно Африки) в отсутствие вспышек КЧС объявили о благополучии своих территорий без официальной процедуры признания ВОЗЖ [5].

Всемирная организация здравоохранения животных относит классическую чуму свиней к одной из шести болезней, которые подлежат процедуре декларации официального статуса благополучия [5]. На 2021 г. 38 стран мира имели статус ВОЗЖ свободы от КЧС. Колумбия и Бразилия на 2021 г. восстановили статус благополучия зон, где сконцентрировано основное промышленное свиноводство Латинской Америки, а Румыния утратила статус в 2020 г. по итогам миссии ВОЗЖ по контролю за соблюдением положений Кодекса здоровья наземных животных. В большинстве благополучных стран, получивших статус официальной свободы от КЧС, ранее были реализованы программы искоренения инфекции. Они носили поэтапный характер, зачастую включая на первой стадии вакцинацию для снижения клинических случаев и сдерживания напряженности, однако на последних этапах обязательно полностью отказывались от иммунизации, несмотря на большие экономические затраты [2, 16].

К странам, применяющим в настоящее время вакцинацию против КЧС (по данным WAHIS), относятся: Армения, Азербайджан, Белоруссия, Босния и Герцеговина, Болгария (только дикие свиньи), Китайская Народная Республика, Тайвань, Колумбия (в отдельных зонах), Куба, Доминиканская Республика, Эквадор, Македония, Гаити, Гонконг, Индия, Индонезия, Корея, Мадагаскар, Молдова, Черногория, Мьянма, Непал, Перу, Филиппины, Сербия, Тимор, Украина, Вьетнам, Таиланд, Россия [5].

Таким образом, эпизоотическая ситуация по КЧС в мире (на территории Евразии, Центральной и Южной Америки) продолжает оставаться напряженной. Вакцинация и предотвращение вовлечения в эпизоотический процесс диких кабанов и домашних свиней из слабозащищенной популяции продолжают оставаться основными противоэпизоотическими мерами при КЧС.

Эпизоотическая ситуация по классической чуме свиней в РФ в 2007–2021 гг. Случаи заболевания КЧС в России регистрируются ежегодно. За период с 2007 по ноябрь 2021 г. (на 25.11.2021) на территории страны были зарегистрированы 42 очага КЧС среди домашних свиней и 51 – среди диких кабанов.

Как представлено на рисунке 1, линии тренда неблагоприятно разнонаправлены для популяций восприимчивых к КЧС животных. Так, для домашних свиней линия тренда нисходящая (при среднем количестве очагов в год $2,47 \pm 2,48$), а для диких кабанов, наоборот, – восходящая (при среднем количестве очагов в год $3,00 \pm 2,50$), что отражает тенденцию улучшения

ситуации по КЧС в популяции домашних свиней и, напротив, ухудшение ситуации в популяции диких кабанов.

Ретроспективные данные, полученные при обследовании очагов КЧС, показывают, что в анализируемые годы вспышки заболевания среди домашних свиней возникали в хозяйствах с низким уровнем биозащиты, где животным часто скармливали пищевые отходы, допускали сбои в проведении вакцинации против КЧС. Серьезной проблемой являлось то, что в таких хозяйствах не удавалось точно установить истинный источник и путь заноса возбудителя инфекции, при этом правдоподобными были фактически все возможные варианты: с кормами, при скармливании пищевых отходов, с обслуживающим свиней персоналом, при ввозе живых животных, при контактах выгуливаемых свиней с дикими кабанов и др. При сложившейся картине множественных путей заноса угроза сохранения и дальнейшего распространения вируса в популяции свиней слабозащищенных хозяйств оставалась перманентной, что создавало сложность установления путей последующего распространения при установлении связей для выявления подозрительных/связанных хозяйств.

Значительную опасность сохранения и распространения вируса КЧС представляет занос возбудителя в популяцию диких кабанов, при этом нарастающее увеличение числа регистрируемых в последние годы случаев КЧС на Дальнем Востоке.

Анализ территориального распространения КЧС в РФ с 2016 по 2020 г. (в 2021 г. не выявляли) показал, что заболевание регистрировали в популяции диких кабанов Приморского края и Амурской области, а среди домашних свиней – только в Приморском крае и Московской области (рис. 2).

Начиная с 2013 г. имеет место территориальное смещение неблагополучия по КЧС в приграничные

западные и восточные регионы РФ. При этом начиная с 2015 г. вспышки КЧС фиксировались исключительно на восточной границе страны: в Амурской области и Приморском крае.

Исключение составляет инцидент, произошедший в одном из личных подсобных хозяйств д. Зиброво Серпуховского района Московской области, где диагноз на КЧС был установлен 07.07.2018 только по результатам исследований, проведенных методом полимеразной цепной реакции в ГБУВ МО «Московская областная ветеринарная лаборатория». Поскольку данные по проведению исследований биоматериала другими подтверждающими лабораторными методами (в частности, по дифференциации обнаруженного генетического материала – эпизootический или вакцинный штамм) отсутствуют, данный факт вызывает настороженность в отношении достоверности поставленного диагноза.

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» регулярно поступает материал для проведения лабораторных исследований на КЧС. В 2020 г. из Приморского края был доставлен патологический материал, отобранный от диких кабанов, отстрелянных в трех районах региона: Шкотовском (ФГБУ «ГООХ «Орлиное»), Пограничном (близ с. Софье-Алексеевское), Спасском (близ с. Нововладимировка).

Первоначально присланный материал исследовался в ФГБУ «Приморская межобластная ветеринарная лаборатория» методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени, при этом была обнаружена РНК вируса КЧС. Впоследствии в ФГБУ «ВНИИЗЖ» проведены исследования, которые подтвердили наличие возбудителя КЧС в пробах, а также позволили типировать обнаруженный вирус. С этой целью был амплифицирован фрагмент гена Е2 вируса, проведено его секвенирование и сравнительный анализ.

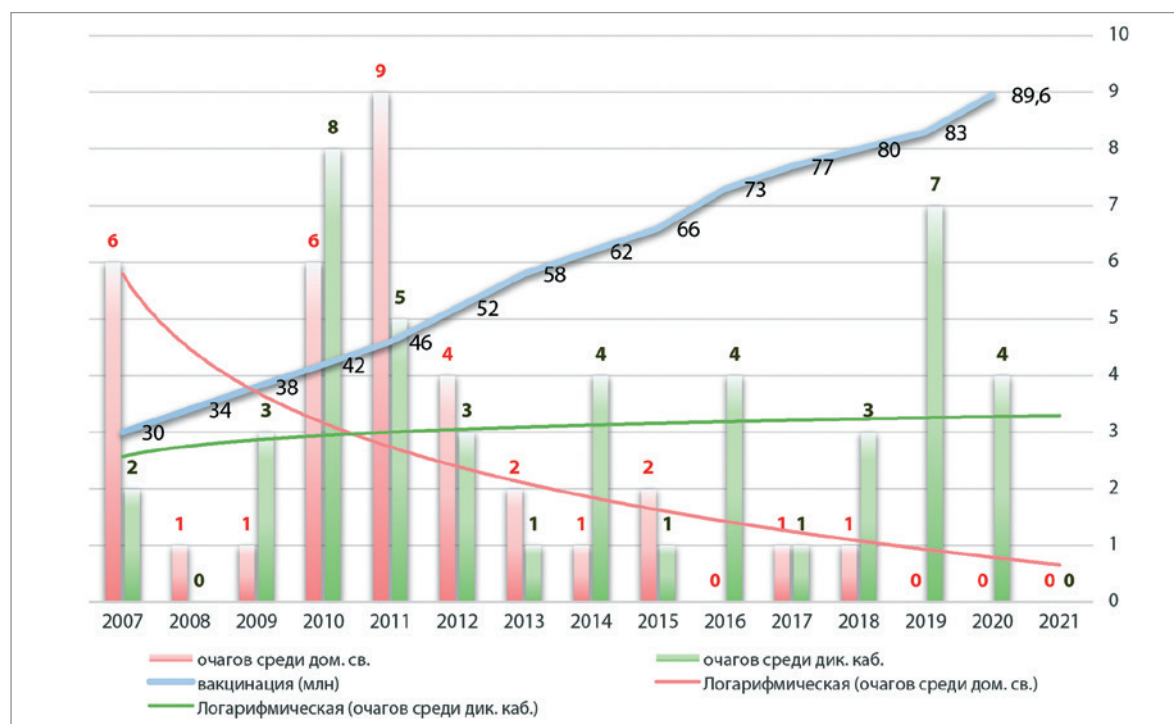


Рис. 1. Количество очагов КЧС на территории РФ среди домашних и диких свиней в 2007–2021 гг.

Fig. 1. Number of CSF outbreaks in the Russian Federation among domestic pigs and wild boars in 2007–2021

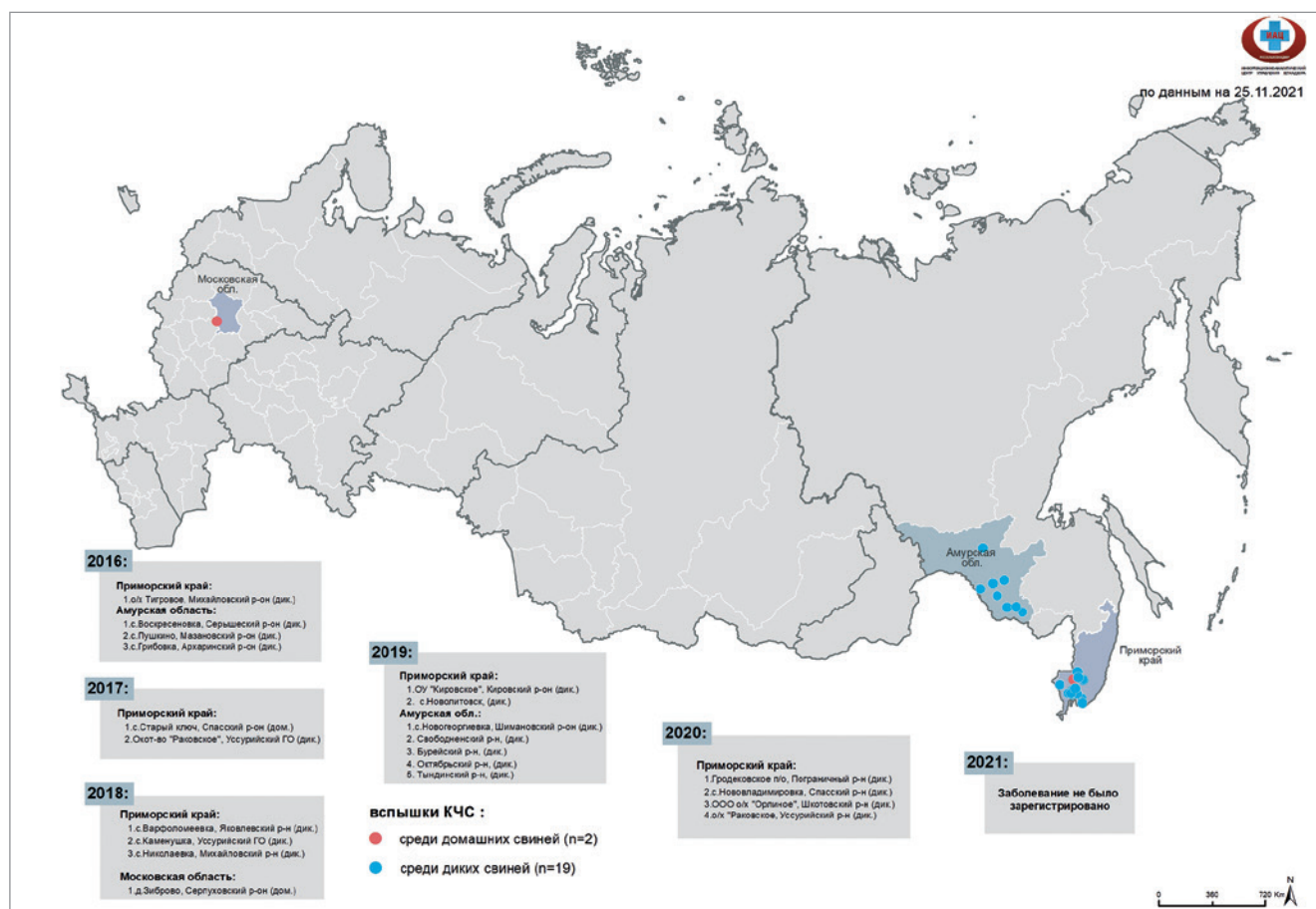


Рис. 2. Территориальное распределение очагов КЧС в РФ в 2016–2021 гг.

Fig. 2. Territorial distribution of CSF outbreaks in the Russian Federation, in 2016–2021

Филогенетический анализ показал, что приморские изоляты 2020 г. принадлежат к субгенотипу вируса КЧС (рис. 3). При этом изоляты из Шкотовского и Спасского районов относятся к кластеру 2.1d и генетически очень близки к приморским изолятам, выделенным в 2015–2019 гг.

Изолят вируса КЧС из Пограничного района принадлежит к другому кластеру и генетически близкородственен вирусу, выделенному в 2019 г. от дикого кабана из Амурской области.

Субгенотип 2.1 вируса КЧС эндемичен в Китае и Юго-Восточной Азии, можно предположить, что изначально именно из КНР возбудитель был занесен на территорию Дальневосточного федерального округа. Ранее вспышки заболевания неоднократно регистрировали в регионах РФ, граничащих с Китаем. Вызвавшие эти вспышки изоляты (Приморский/2007, ЕАО/2012, Амурский/2014 и Приморский/2015) генетически близки китайским изолятам вируса КЧС, что позволяет говорить о заносном происхождении болезни. Обращает внимание тот факт, что вирус КЧС в Китае очень разнообразен: на территории страны циркулируют субгенотипы 1.1, 2.1, 2.2 и 2.3 [3, 9, 17]. То обстоятельство, что до настоящего времени на территории Дальневосточного федерального округа выявляли вирус КЧС только субгенотипа 2.1, вероятно, объясняется тем, что именно этот генотип является преобладающим в КНР [18]. На сегодняшний день в Китае в пределах субгенотипа 2.1 различают 4 кластера: 2.1a, 2.1b, 2.1c и 2.1d [9].

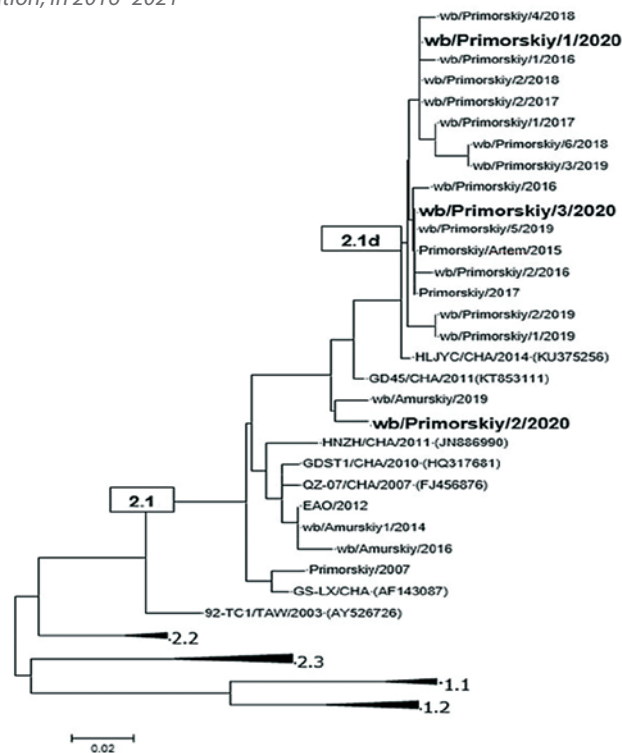


Рис. 3. Положение приморских изолятов вируса КЧС 2020 г. на филогенетическом древе (сравнение нуклеотидных последовательностей гена E2; wb – дикий кабан)

Fig. 3. CSF virus Primorsky isolates (2020) in the phylogenetic tree (comparison of E2 gene nucleotide sequences; wb – wild boar)

Отметим также, что в 2017 г. на севере Южной Кореи в провинции Кёнгидо, а затем в 2018–2019 гг. в провинции Канвондо была зарегистрирована КЧС у диких кабанов. Выделенные в 2017–2019 гг. от диких кабанов 16 штаммов вируса КЧС были идентичны штамму YC16CS (субгенотип 2.1d), изолированному при вспышке КЧС среди племенных свиней недалеко от границы с Северной Кореей в 2016 г. [13].

Поскольку, как сказано выше, все приморские изоляты 2015–2020 гг. принадлежат к субгенотипу 2.1 вируса КЧС, который является преобладающим на территории Китая, можно предположить, что он с 2015 г. циркулирует в популяции кабанов Приморского края. Так, в работах С. В. Тереховой и соавт. [19–21] отмечена высокая вероятность того, что на территории данного региона в 2015–2019 гг. сформировался природный антропоургический очаг. Поддержанию высокого уровня риска распространения КЧС в Приморском крае также способствовали зарегистрированные факты отсутствия вакцинации отдельных популяций в личных подсобных хозяйствах в течение длительного времени, недостаточная вакцинация, приобретение животных без ветеринарных сопроводительных документов из сомнительных источников и практика свободновыгульного содержания свиней на границе лесных угодий домашней популяции пораженного КЧС подсобного хозяйства.

По данным китайских исследователей, вакцины на основе штамма С (Chinese vaccine strain – C-strain) способны обеспечивать защиту от любых выявленных подгрупп вируса КЧС [3, 18, 22, 23]. Массовая иммунизация домашних свиней в РФ отечественными живыми вакцинами также способствует формированию защиты у большей части восприимчивых животных вне зависимости от генотипа циркулирующих изолятов вируса [2, 24], что значительно снижает риск заноса возбудителя из инфицированной популяции диких кабанов, особенно на территориях, удаленных от мест локального неблагополучия. Однако при изменении ситуации с отказом от вакцинации такую угрозу тоже необходимо

принимать во внимание. Учитывая сложную ситуацию по КЧС на территории Китая и имеющиеся между нашими странами тесные экономические и хозяйственные связи (включая возможность несанкционированного перемещения через границу инфицированной возбудителем КЧС продукции), нельзя исключать повторных заносов новых субгенотипов вируса КЧС в Дальневосточный федеральный округ и формирования природных антропоургических очагов.

Вакцинация. Снижение числа регистрируемых случаев КЧС в России, предположительно, связано с массовой вакцинацией животных [9, 24, 25]. Применение в стране живых аттенуированных вакцин не оставляет возможности дифференцировать привитых животных от зараженных, хотя эти вакцины, как считается, и создают более эффективный и продолжительный иммунитет [2, 22, 26].

Помимо рутинной вакцинации проведение регионализации территорий РФ, усиление противоэпизоотических мер со снижением числа слабозащищенных хозяйств также можно отнести к числу факторов, способствующих сокращению количества регистрируемых вспышек КЧС в популяции домашних свиней [9, 24, 25]. Так, в небольших хозяйствах с низким уровнем защиты (личное подсобное хозяйство, крестьянское (фермерское) хозяйство, хозяйство индивидуального предпринимателя и др.) за 2007–2018 гг. численность домашних свиней снизилась с 7,6 до 2,9 млн гол. За тот же период численность свиней в сельскохозяйственных организациях, наоборот, выросла с 8,7 до 20,8 млн гол. Впрочем, уровень реализации всех вышеупомянутых мер (особенно отказ от вакцинации) вряд ли достаточен, чтобы кардинально изменить эпизоотическую ситуацию.

Для оценки общей картины по вакцинации против КЧС в РФ проведен анализ данных ветеринарной отчетности (формы 1-вет и 1-вет-А) с учетом статистических данных по численности поголовья домашних свиней. На отрезке в 27 лет (с 1991 по 2017 г.) установлена корреляционная зависимость ($r = -0,49769$ при $p < 0,05$)

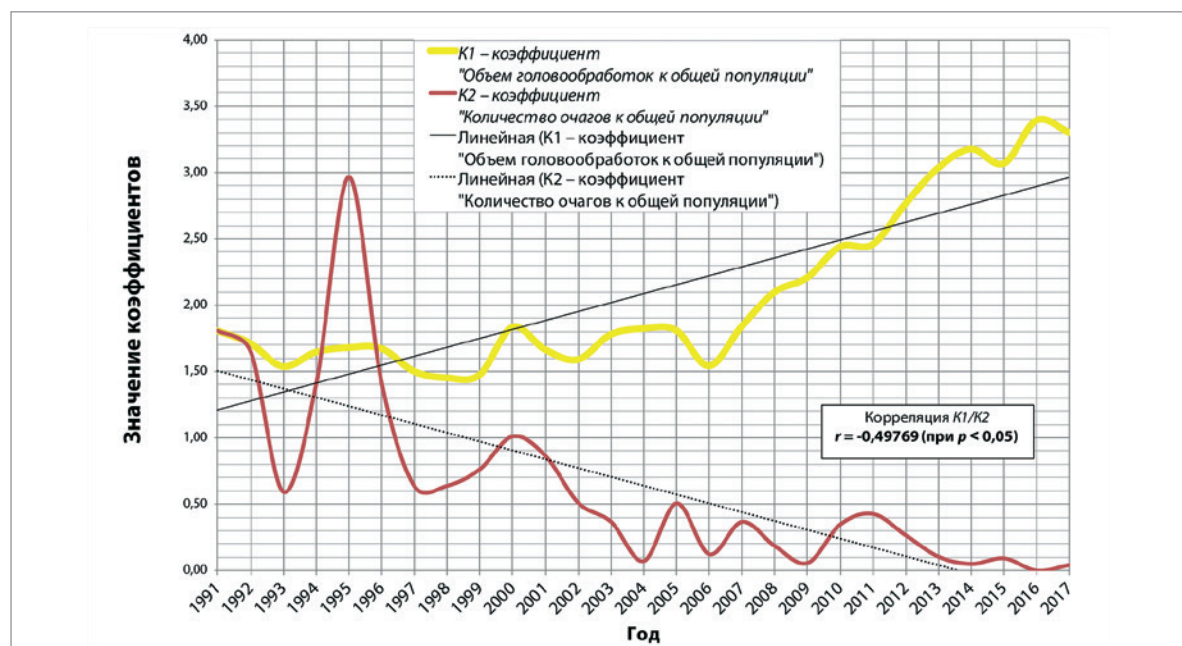


Рис. 4. Значения коэффициентов K1 (головообработки) и K2 (количество очагов) в 1991–2017 гг.

Fig. 4. Coefficient K1 (number of vaccinated animals) and K2 (number of outbreaks) in 1991–2017

между увеличением объемов вакцинации и снижением числа регистрируемых очагов КЧС среди домашних свиней (рис. 4). Близких к значению 2,5 K1 стал достигать лишь с 2011 г. (при $K2 = 0,13 \pm 0,15$ ($M \pm m$) с 2011 г.), при этом с 1991 по 2011 г. K1 не превышал 3,0 и в среднем составлял $1,84 \pm 0,35$ ($M \pm m$), K2 при этом был $10,06 \pm 11,65$ ($M \pm m$) (при $\min = 0,45$; $\max = 39,00$). Исходя из этого, для анализа выбран период с 2011 г.

С применением регрессионного анализа была оценена зависимость числа регистрируемых очагов КЧС (используя коэффициент K2) и вакцинации (используя коэффициент K1) на промежутке с 2011 по 2018 г. (табл.).

Коэффициент детерминации (R -квадрат) в представленной модели ($0,948 > 0,8$) указывает на хорошую объяснимость зависимости между изучаемыми параметрами K1 и K2, при том что сильная обратная корреляционная зависимость между K1 и K2 ($r = -0,97$) значима ($p < 0,05$). Дисперсионный анализ свидетельствует о значимости различий в средних значениях ($F < F_{0.05}$; $0,0000444645$), коэффициент переменной уравнения «х» отрицателен (t -статистика указывает на его значимость; $p < 0,000045$) и сохраняется в отрицательных границах 95%-го доверительного интервала. Коэффициент «У» также не меняет знака в пределах 95%-го доверительного интервала и является значимым ($p < 0,00002$). Абсолютная ошибка аппроксимации ($MAPE = 39\%$) находится в интервале $20\% < A < 50\%$, поэтому можно говорить, что модель подгонана с удовлетворительной точностью.

Исходя из данных полученной регрессионной модели, проведение вакцинации поголовья с достижением уровня обработки K1 = 3,372 позволит достичь показателя K2 < 0,0001 (т. е. фактически 1 очаг на 10 000 лет, что оценивается как «незначительный риск»).

Таким образом, к числу факторов, способствующих снижению числа регистрируемых клинических случаев КЧС в популяции домашних свиней РФ, можно отнести пророст объемов вакцинации против КЧС с 2011 г.

Известно, что иммунизация свиней против КЧС, скорее, вынужденная мера, неспособная прекратить вирусносительство в ранее инфицированном стаде [7, 27, 28]. В стаде свиней, в т. ч. среди привитых против КЧС животных, всегда имеются незащищенные от заражения слабоиммунные животные, что обусловлено низкой возрастной иммунореактивностью поросят, подавлением формирования поствакцинального иммунитета имеющимися у поросят колющими антителами. Латентно инфицированные свиноматки трансплацентарно передают возбудитель потомству, которое становится переносителем вируса [1, 27–30]. Имеются сообщения, что массовое применение живых вакцин влияет на адаптивную эволюцию вируса КЧС, в т. ч. путем рекомбинации эпизоотических штаммов с вакцинами [23]. Данные негативные стороны использования вакцинации отмечаются как создающие угрозу длительной циркуляции вируса в неблагополучных хозяйствах. Международные рекомендации (глава 1.6 Кодекса здоровья наземных животных) при оценке статуса благополучия стран по КЧС учитывают это и предписывают в последние 12 месяцев не проводить иммунизацию против КЧС домашних и содержащихся в неволе диких свиней, или, если вакцинация проводилась, дифференцировать иммунных свиней от зараженных [5, 7].

С другой стороны, во многих странах мира, где ранее с успехом реализованы программы искоренения КЧС, которые предусматривали полный отказ от вакцинации,

недоработки в системах эпизоотологического надзора и контроля за инфекцией были чреваты ее массовым распространением. Так, в 1997–1998 гг. в Голландии зарегистрировано 429 вспышек КЧС, в 2000 г. в Великобритании – 16 вспышек, в 2001–2002 гг. в Испании – 49 вспышек. В 2006–2007 гг. в Румынии было зафиксировано 1597 вспышек КЧС среди домашних и диких свиней. Для стабилизации эпизоотической ситуации в стране пришлось временно вернуться к иммунизации домашних свиней. В 2006–2009 гг. неблагополучие по КЧС зарегистрировано в Хорватии (отмечено 129 вспышек среди домашних свиней), Венгрии (225 вспышек среди диких свиней), Болгарии (12 вспышек среди домашних и 4 – среди диких свиней), Словакии (более 10 вспышек среди диких свиней) [5, 9, 24]. После 10-летнего благополучия Бразилии по КЧС в 2018 г. там

Таблица

Результаты регрессионного анализа числа регистрируемых очагов КЧС (используя коэффициент K2) и вакцинации (используя коэффициент K1) в период с 2011 по 2018 г.

Table

Regression analysis of CSF registered outbreaks (using coefficient K2) and vaccination (using coefficient K1), from 2011 to 2018

Год	K2 (Y)	K1 (x)	(Y) расчетное	Остатки (O)
2011	0,427807487	2,459893048	0,396101668	0,031705819
2012	0,265957447	2,765957447	0,263219277	0,00273817
2013	0,104712042	3,036649215	0,145694436	-0,040982394
2014	0,051282051	3,179487179	0,083679218	-0,032397167
2015	0,093023256	3,069767442	0,131315667	-0,038292411
2016	0	3,395348837	-0,010040318	0,010040318
2017	0,043478261	3,334782609	0,016255407	0,027222854
2018	0,042194093	3,367088608	0,00222928	0,039964813

$MAPE (\sum([O]/Y) / n \times 100\%) = 39\%$

Абсолютная ошибка аппроксимации (MAPE) удовлетворительна ($20\% < A < 50\%$)

Регрессионная статистика						
Множественный <i>R</i>		0,973724123				
<i>R</i> -квадрат		0,948138669				
Нормированный <i>R</i> -квадрат		0,939495113				
Стандартная ошибка		0,035700785				
Наблюдения		8				
Дисперсионный анализ						
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	Значимость <i>F</i>	
Регрессия	1	0,139808953	0,139808953	109,6931347	4,44645E-05	
Остаток	6	0,007647276	0,001274546			
Итого	7	0,147456229				
Данные по коэффициентам уравнения регрессии						
	Коэффициент	Стандартная ошибка	<i>t</i> -статистика	<i>P</i> -значение	Ниж. 95%	Верх. 95%
<i>Y</i> -пересечение	1,464100669	0,12814027	11,42576543	2,6961E-05	1,1505527	1,7776486
Переменная <i>x</i>	-0,434164811	0,041453852	-10,47344904	4,44645E-05	-0,5355987	-0,3327309

произошло 38 вспышек заболевания среди домашних свиней, а за 11 месяцев 2019 г. – еще 30 вспышек. Меры по стабилизации ситуации в стране были направлены главным образом на усиление системы эпизоотологического надзора и контроля КЧС в неблагополучных зонах [15]. В Японии, более 26 лет отказывавшейся от вакцинации, в 2018 г. КЧС была зарегистрирована у диких кабанов и свиней. Пространственно-временной анализ, проведенный в префектурах Гумма и Сайтама, указывал на антропогенные факторы при распространении инфекции. В ответ на вспышки дважды в период с марта по май 2019 г. в отдельных районах префектур Айти и Гифу проводилась оральная иммунизация диких кабанов с помощью коммерческой вакцины Pestiporc Oral (IDT Biologika GmbH, Германия), которая не смогла предотвратить распространение КЧС, хотя снижение числа случаев инфекции в сильно пострадавших районах страны было заметным [11]. Сходные результаты применения вакцинации дикого кабана на территории Приморского края в 2004–2016 гг. также свидетельствовали о достижении цели снижения массового падежа поголовья кабанов, но не предотвращении циркуляции вируса [19, 20].

Отрицательные аспекты, связанные с применением политики искоренения КЧС без вакцинации (тотальный санитарный убой животных, материально-технические и технологические затраты на биобезопасность и контроль, этические вопросы), указывают на иммунизацию как на главную меру борьбы с будущими вспышками на фоне серьезной озабоченности, которую вызывает возможная повторная глобализация угрозы иммунонаивной к вирусу КЧС популяции в мире. Следовательно, необходимость продолжения дальнейших исследований для создания более эффективных вакцин против КЧС на сегодня является неоспоримой [2, 22, 26].

В отношении DIVA-стратегии стоит отметить, что первое поколение маркерных вакцин (коммерческие субъединичные E2-вакцины), несмотря на свою безопасность, не обладали такой же высокой эффективностью, как живые аттенуированные [2, 22]. В ряде стран продолжают работы по созданию вакцин, которые можно было бы использовать в рамках DIVA-стратегии. Однако их применение для контроля и искоренения КЧС необходимо сочетать с хорошо организованным и реализованным эпиднадзором, карантинными мерами на границе и биобезопасностью свиноводческой отрасли [22].

Считаем, что на сегодня внедрение на территории РФ зонирования по КЧС с созданием благополучных зон без вакцинации и сохранением вакцинации в зонах неблагополучия (риска) наиболее перспективно на основе уже существующего зонирования территории страны по ящуру [5]. В части общих ветеринарно-санитарных и карантинных мер зонирование по ящуру и КЧС схожи, а целевое усиление надзора и карантинных мер по КЧС в существующих зонах необходимо внедрять отдельно. Борьба с КЧС с применением живых аттенуированных вакцин, практикующаяся на протяжении десятилетий в РФ, на наш взгляд, проложила путь к дальнейшему отказу от вакцинации и успешному искоренению данной инфекции, как показывает опыт официально свободных от КЧС стран мира либо стран, имеющих свободные от КЧС зоны [2, 14, 15].

Ожидаемое проявление КЧС в 2022 г. на территории Российской Федерации. Моделирование возможного числа случаев КЧС на 2022 г. показало, что в популяции домашних свиней можно ожидать в среднем 3 (95%-й доверительный интервал: 0–5) вспышки, в популяции диких кабанов – 3 (0–6) вспышки (рис. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последнее десятилетие произошло смещение неблагополучия по КЧС из центральных частей РФ в приграничные восточные регионы страны. Однако тренд неблагополучия в популяции диких кабанов, в отличие от прошлых лет, в 2019–2020 гг. изменил направление (перешел к росту), что связано с распространением КЧС в Приморском крае и Амурской области. В долгосрочной перспективе (при существующем уровне специфической профилактики) прогнозируется сохранение ситуации с малым числом вспышек среди домашних свиней (спорадическое проявление КЧС).

В краткосрочной перспективе (в 2022 г.) ожидается/прогнозируется возникновение от 0 до 5 очагов КЧС (при ожидаемом среднем значении 3) в популяции домашних свиней и от 0 до 6 очагов (при ожидаемом среднем значении 3) в популяции диких кабанов. При этом основной целевой домашней популяцией для распространения КЧС в 2022 г. ожидаемо будут домашние свиньи в малых свиноводческих хозяйствах со слабой биологической безопасностью (биозащитой), где имеются нарушения (недостатки) при проведении вакцинации.

Основные угрозы распространения КЧС в РФ с большей вероятностью связаны с внутренними факторами

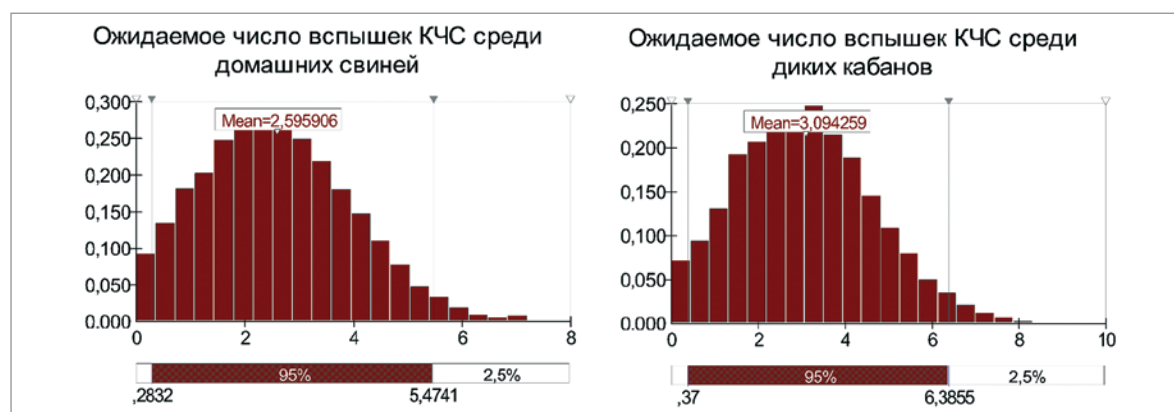


Рис. 5. Прогнозируемое на 2022 г. число очагов КЧС в популяции домашних свиней и диких кабанов

Fig. 5. Projected number of CSF outbreaks in the population of domestic pigs and wild boars, for 2022

риска (качество исполнения противоэпизоотических мероприятий, главным образом вакцинации) и территориями циркуляции вируса среди диких кабанов. Среди диких кабанов основной мишенью возбудителя КЧС в 2022 г. останутся восприимчивые животные в приграничном с КНР и КНДР Приморском крае, где ранее (с 2015 г.) была установлена высокая вероятность формирования природного антропоургического очага инфекции и циркуляция вируса КЧС, широко распространившегося в популяциях дикого кабана региона (КНР, Южная Корея, КНДР и Приморский край РФ). При этом нельзя исключить возможность воздействия антропогенного фактора, под влиянием которого инфекция может проникнуть в любой из регионов РФ.

К числу факторов, способствующих снижению числа регистрируемых клинических случаев КЧС в популяции домашних свиней РФ, можно отнести прирост объемов вакцинации против КЧС с 2011 г. Иммунизация против КЧС в РФ и ее качество на данный момент остается определяющим фактором сдерживания распространения эпизоотии на территории страны. Тренд неблагополучия в популяции домашних свиней остается ниспадающим.

Для обоснованного выбора дальнейшей стратегии контроля КЧС необходимо внедрить эффективную систему эпизоотологического надзора, которая будет способна подтвердить благополучие или установить точный ареал распространения инфекции (в т. ч. скрытого носительства) в популяции домашних и диких свиней в различных регионах страны. Доказательство благополучия, основанное лишь на факте отсутствия нотифицированных вспышек КЧС в популяции, где широко применяется вакцинация, неприемлемо.

В случае принятия решения о возможности отказа от вакцинации против КЧС новые меры рационально внедрять поэтапно, с апробацией их в хозяйствах с высоким уровнем биозащиты, в зонах наименьшего риска возникновения КЧС и лишь затем (в случае надежного подтверждения успешных результатов) на всей территории страны.

Внедрение на территории РФ зонирования по КЧС с созданием благополучных зон без вакцинации и сохранением вакцинации в зонах неблагополучия (риска), на наш взгляд, наиболее перспективно на основе уже существующего зонирования территории РФ по ящуру.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Инфекционная патология животных: в 2 т. Т. 1. Под ред. А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьева, Е. А. Непоклонова, Е. С. Воронина. М.: Академкнига; 2006. 911 с.
2. Coronado L., Perera C. L., Rios L., Frías M. T., Pérez L. J. A critical review about different vaccines against classical swine fever virus and their repercussions in endemic regions. *Vaccines (Basel)*. 2021; 9 (2):154. DOI: 10.3390/vaccines9020154.
3. Fan J., Liao Y., Zhang M., Liu C., Li Z., Li Y., et al. Anti-classical swine fever virus strategies. *Microorganisms*. 2021; 9 (4):761. DOI: 10.3390/microorganisms9040761.
4. Blome S., Staubach C., Henke J., Carlson J., Beer M. Classical swine fever – An updated review. *Viruses*. 2017; 9 (4):86. DOI: 10.3390/v9040086.
5. WOAH. World Animal Health Information System. Режим доступа: <https://wahis.woah.org>.
6. Malik Y. S., Bhat S., Kumar O. R. V., Yadav A. K., Sircar S., Ansari M. I., et al. Classical swine fever virus biology, clinicopathology, diagnosis, vaccines and a meta-analysis of prevalence: A review from the Indian perspective. *Pathogens*. 2020; 9 (6):500. DOI: 10.3390/pathogens9060500.
7. Classical swine fever (infection with classical swine fever virus). In: WOAH. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2022; Chapter 3.9.3. Режим доступа: [https://www.woah.org/fileadmin/](https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.09.03_CSF.pdf)

8. Suradhat S., Damrongwatanapokin S., Thanawongnuwech R. Factors critical for successful vaccination against classical swine fever in endemic areas. *Vet. Microbiol.* 2007; 119 (1): 1–9. DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.10.003.
9. Шевцов А. А., Оганесян А. С., Коренной Ф. И., Щербак А. В., Караулов А. К. Прогноз по классической чуме свиней на 2020 год. В кн.: *Прогнозы по заразным болезням животных в Российской Федерации на 2020 год*. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2019; 81–112.
10. Ягодинский В. Н. Динамика эпидемического процесса. М.: Медицина; 1977. 240 с.
11. Isoda N., Baba K., Ito S., Ito M., Sakoda Y., Makita K. Dynamics of classical swine fever spread in wild boar in 2018–2019, Japan. *Pathogens*. 2020; 9 (2):119. DOI: 10.3390/pathogens9020119.
12. Postel A., Nishi T., Kameyama K. I., Meyer D., Suckstorff O., Fukai K., Becher P. Reemergence of classical swine fever, Japan, 2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25 (6): 1228–1231. doi: 10.3201/eid2506.181578.
13. Choe S., Cha R. M., Yu D. S., Kim K. S., Song S., Choi S. H., et al. Rapid spread of classical swine fever virus among South Korean wild boars in areas near the border with North Korea. *Pathogens*. 2020; 9 (4):244. DOI: 10.3390/pathogens9040244.
14. Pineda P., Deluque A., Peña M., Diaz O. L., Allepuz A., Casal J. Descriptive epidemiology of classical swine fever outbreaks in the period 2013–2018 in Colombia. *PLoS One*. 2020; 15 (6):e0234490. DOI: 10.1371/journal.pone.0234490.
15. De Oliveira L. G., Gatto I. R. H., Mechler-Dreibe M. L., Almeida H. M. S., Sonálio K., Storino G. Y. Achievements and challenges of classical swine fever eradication in Brazil. *Viruses*. 2020; 12 (11):1327. DOI: 10.3390/v12111327.
16. Meuwissen M. P., Horst S. H., Huirne R. B., Dijkhuizen A. A. A model to estimate the financial consequences of classical swine fever outbreaks: principles and outcomes. *Prev. Vet. Med.* 1999; 42 (3–4): 249–270. DOI: 10.1016/S0167-5877(99)00079-3.
17. Luo Y., Li S., Sun Y., Qiu H. J. Classical swine fever in China: a minireview. *Vet. Microbiol.* 2014; 172 (1–2): 1–6. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.04.004.
18. Luo T. R., Liao S. H., Wu X. S., Feng L., Yuan Z. X., Li H., et al. Phylogenetic analysis of the E2 gene of classical swine fever virus from the Guangxi Province of southern China. *Virus Genes*. 2011; 42 (3): 347–354. DOI: 10.1007/s11262-011-0578-8.
19. Теребова С. В., Колтун Г. Г., Подвалова В. В., Короткова И. П. Ретроспективный анализ классической чумы диких кабанов в Приморье. *Дальневосточный аграрный вестник*. 2019; 4: 93–101. DOI: 10.2441/1999-6837-2019-14059.
20. Теребова С. В., Колтун Г. Г., Подвалова В. В., Животовский В. А. Эпизоотическая ситуация по классической чуме свиней в Приморском крае. *Дальневосточный аграрный вестник*. 2016; 3 (39): 77–82. eLIBRARY ID: 27216023.
21. Теребова С. В., Колтун Г. Г., Подвалова В. В., Короткова И. П. Эффективность противоэпизоотических мероприятий при выявлении классической чумы свиней среди диких кабанов на территории Уссурийского городского округа. *Аграрный вестник Приморья*. 2019; 2 (14): 20–23. eLIBRARY ID: 41297039.
22. Wei Q., Liu Y., Zhang G. Research progress and challenges in vaccine development against classical swine fever virus. *Viruses*. 2021; 13 (3):445. DOI: 10.3390/v13030445.
23. Ji W., Niu D. D., Si H. L., Ding N. Z., He C. Q. Vaccination influences the evolution of classical swine fever virus. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 25: 69–77. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.04.008.
24. Шевцов А. А., Дудников С. А., Караулов А. К., Петрова О. Н., Коренной Ф. И., Выставкина Е. В. Некоторые аспекты эпизоотического проявления классической, африканской чумы свиней и болезни Ауески: информационно-аналитический обзор. Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ»; 2008. 38 с.
25. Инструкция о мероприятиях по предупреждению и ликвидации классической чумы свиней: утв. ГВУ Минсельхоза 30.03.1990. Режим доступа: <https://центр-ветеринарии.рф/images/docs/vetpravila/KЧС.pdf>.
26. Ganges L., Crooke H. R., Bohórquez J. A., Postel A., Sakoda Y., Becher P., Ruggli N. Classical swine fever virus: the past, present and future. *Viruses*. 2020; 289:198151. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.198151.
27. Dahle J., Liess B. A review on classical swine fever infections in pigs: epizootology, clinical disease and pathology. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Disease*. 1992; 15 (3): 203–211. DOI: 10.1016/0147-9571(92)90093-7.
28. Moennig V., Floegel-Niesmann G., Greiser-Wilke I. Clinical signs and epidemiology of classical swine fever: a review of new knowledge. *Vet. J.* 2003; 165 (1): 11–20. DOI: 10.1016/S1090-0233(02)00112-0.
29. Elbers A. R., Vos J. H., Bouma A., Stegeman J. A. Ability of veterinary pathologists to diagnose classical swine fever from clinical signs and gross pathological findings. *Prev. Vet. Med.* 2004; 66 (1–4): 239–246. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2004.09.003.
30. Mittelholzer C., Moser C., Tratschin J. D., Hofmann M. A. Analysis of classical swine fever virus replication kinetics allows differentiation of highly virulent from avirulent strains. *Vet. Microbiol.* 2000; 74 (4): 293–308. DOI: 10.1016/S0378-1135(00)00195-4.

REFERENCES

1. Infectious pathology of animals: 2 volumes. Vol. 1. Ed. by A. Ya. Samuylenko, B. V. Solovoyov, Ye. A. Nepoklonov, Ye. S. Voronin. Moscow: Akademykniga; 2006. 911 p.
2. Coronado L., Perera C. L., Rios L., Frías M. T., Pérez L. J. A critical review about different vaccines against classical swine fever virus and their repercussions in endemic regions. *Vaccines (Basel)*. 2021; 9 (2):154. DOI: 10.3390/vaccines9020154.
3. Fan J., Liao Y., Zhang M., Liu C., Li Z., Li Y., et al. Anti-classical swine fever virus strategies. *Microorganisms*. 2021; 9 (4):761. DOI: 10.3390/microorganisms9040761.
4. Blome S., Staubach C., Henke J., Carlson J., Beer M. Classical swine fever – An updated review. *Viruses*. 2017; 9 (4):86. DOI: 10.3390/v9040086.
5. WOAH. World Animal Health Information System. Available at: <https://wahis.woah.org>.
6. Malik Y. S., Bhat S., Kumar O. R. V., Yadav A. K., Sircar S., Ansari M. I., et al. Classical swine fever virus biology, clinicopathology, diagnosis, vaccines and a meta-analysis of prevalence: A review from the Indian perspective. *Pathogens*. 2020; 9 (6):500. DOI: 10.3390/pathogens9060500.
7. Classical swine fever (infection with classical swine fever virus). In: WOAH. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2022; Chapter 3.9.3. Available at: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.09.03_CSF.pdf.
8. Suradhat S., Damrongwatanapokin S., Thanawongnuwech R. Factors critical for successful vaccination against classical swine fever in endemic areas. *Vet. Microbiol.* 2007; 119 (1): 1–9. DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.10.003.
9. Shevtsov A. A., Oganessian A. S., Korennoy F. I., Scherbakov A. V., Karaulov A. K. Prognost po klassicheskoy chume sviney na 2020 god = The forecast for classical swine fever for 2020. In: *Forecasts for infectious animal diseases in the Russian Federation for 2020*. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2019; 81–112. (in Russ.).
10. Yagodin V. N. Dynamics of the epidemic process. Moscow: Meditsina; 1977. 240 p. (in Russ.).
11. Isoda N., Baba K., Ito S., Ito M., Sakoda Y., Makita K. Dynamics of classical swine fever spread in wild boar in 2018–2019, Japan. *Pathogens*. 2020; 9 (2):119. DOI: 10.3390/pathogens9020119.
12. Postel A., Nishi T., Kameyama K. I., Meyer D., Suckstorff O., Fukai K., Becher P. Reemergence of classical swine fever, Japan, 2018. *Emerg. Infect. Dis.* 2019; 25 (6): 1228–1231. doi: 10.3201/eid2506.181578.
13. Choe S., Cha R. M., Yu D. S., Kim K. S., Song S., Choi S. H., et al. Rapid spread of classical swine fever virus among South Korean wild boars in areas near the border with North Korea. *Pathogens*. 2020; 9 (4):244. DOI: 10.3390/pathogens9040244.
14. Pineda P., Deluque A., Peña M., Diaz O. L., Allepuz A., Casal J. Descriptive epidemiology of classical swine fever outbreaks in the period 2013–2018 in Colombia. *PLoS One*. 2020; 15 (6):e0234490. DOI: 10.1371/journal.pone.0234490.
15. De Oliveira L. G., Gatto I. R. H., Mechler-Dreibe M. L., Almeida H. M. S., Sonálio K., Storino G. Y. Achievements and challenges of classical swine fever eradication in Brazil. *Viruses*. 2020; 12 (11):1327. DOI: 10.3390/v12111327.
16. Meuwissen M. P., Horst S. H., Huirne R. B., Dijkhuizen A. A. A model to estimate the financial consequences of classical swine fever outbreaks: principles and outcomes. *Prev. Vet. Med.* 1999; 42 (3–4): 249–270. DOI: 10.1016/S0167-5877(99)00079-3.
17. Luo Y., Li S., Sun Y., Qiu H. J. Classical swine fever in China: a mini-review. *Vet. Microbiol.* 2014; 172 (1–2): 1–6. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.04.004.
18. Luo T. R., Liao S. H., Wu X. S., Feng L., Yuan Z. X., Li H., et al. Phylogenetic analysis of the E2 gene of classical swine fever virus from the Guangxi Province of southern China. *Virus Genes*. 2011; 42 (3): 347–354. DOI: 10.1007/s11262-011-0578-8.
19. Terebova S. V., Coltun G. G., Podvalova V. V., Korotkova I. P. Retrospective analysis of classical swine fever in wild boars in the Primorye. *Dal'nevostochnyy agrarnyy vestnik = Far Eastern Agrarian Herald*. 2019; 4 (52): 93–101. DOI: 10.24411/1999-6837-2019-14059. (in Russ.).
20. Terebova S. V., Koltun G. G., Podvalova V. V., Zhivotovskiy V. A. Epizootic situation of classical swine fever in the primorskiy territory. *Dal'nevostochnyy agrarnyy vestnik = Far Eastern Agrarian Herald*. 2016; 3 (39): 77–82. eLIBRARY ID: 27216023. (in Russ.).
21. Terebova S. V., Koltun G. G., Podvalova V. V., Korotkova I. P. The efficiency of animal disease control for classical swine fever detection among wild boar on the territory of Ussuriisk urban district. *Agrarian bulletin of Primorye*. 2019; 2 (14): 20–23. eLIBRARY ID: 41297039. (in Russ.).
22. Wei Q., Liu Y., Zhang G. Research progress and challenges in vaccine development against classical swine fever virus. *Viruses*. 2021; 13 (3):445. DOI: 10.3390/v13030445.
23. Ji W., Niu D. D., Si H. L., Ding N. Z., He C. Q. Vaccination influences the evolution of classical swine fever virus. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 25: 69–77. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.04.008.
24. Shevtsov A. A., Dudnikov S. A., Karaulov A. K., Petrova O. N., Korennoy F. I., Vystavkina E. S. Some aspects of epizootic manifestations of classical and African swine fevers, Aujeszki disease: an informational and analytical review. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2008. 38 p. (in Russ.).
25. Instruksiya o meropriyatiyakh po preduprezhdeniyu i likvidatsii klassicheskoy chumy sviney = Instructions on measures taken to prevent and eliminate classical swine fever: approved. by GUV of the Ministry of Agriculture 30.03.1990. Available at: <https://центр-ветеринарии.рф/images/docs/vetpravila/K4C.pdf>. (in Russ.).
26. Ganges L., Crooke H. R., Bohórquez J. A., Postel A., Sakoda Y., Becher P., Ruggli N. Classical swine fever virus: the past, present and future. *Virus Res.* 2020; 289:198151. DOI: 10.1016/j.virusres.2020.198151.
27. Dahle J., Liess B. A review on classical swine fever infections in pigs: epizootiology, clinical disease and pathology. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Disease*. 1992; 15 (3): 203–211. DOI: 10.1016/0147-9571(92)90093-7.
28. Moennig V., Floegel-Niesmann G., Greiser-Wilke I. Clinical signs and epidemiology of classical swine fever: a review of new knowledge. *Vet. J.* 2003; 165 (1): 11–20. DOI: 10.1016/S1090-0233(02)00112-0.
29. Elbers A. R., Vos J. H., Bouma A., Stegeman J. A. Ability of veterinary pathologists to diagnose classical swine fever from clinical signs and gross pathological findings. *Prev. Vet. Med.* 2004; 66 (1–4): 239–246. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2004.09.003.
30. Mittelholzer C., Moser C., Tratschin J. D., Hofmann M. A. Analysis of classical swine fever virus replication kinetics allows differentiation of highly virulent from avirulent strains. *Vet. Microbiol.* 2000; 74 (4): 293–308. DOI: 10.1016/S0378-1135(00)00195-4.

Поступила в редакцию / Received 08.04.2022

Поступила после рецензирования / Revised 16.05.2022

Принята к публикации / Accepted 20.06.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Оганесян Андрей Серожович, кандидат ветеринарных наук, заведующий сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Щербаков Алексей Владимирович, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

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

Andrey S. Oganessian, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Sector, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

Alexey V. Shcherbakov, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for highly dangerous diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

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



Африканская чума свиней на территории Республики Крым в 2015–2018 гг.

Н. Г. Кошарный¹, С. И. Данильченко², М. А. Пасункина³, Д. В. Гадзевич⁴, Н. Г. Воротилова⁵

Филиал ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» в Республике Крым (Филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым), г. Симферополь, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0003-4710-3771>, e-mail: kosharniy@arriah.ru

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

³ <https://orcid.org/0000-0003-0921-0648>, e-mail: pasunkina@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-1750-6636>, e-mail: gadzevich@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-7309-4966>, e-mail: vorotilova@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

За анализируемый период с 2015 по 2018 г. на территории Республики Крым вследствие заноса африканской чумы свиней численность поголовья домашних свиней в личных подсобных хозяйствах и сельскохозяйственных организациях сократилась на 25,34%, популяция дикого кабана, обитающего в крымских угодьях, уменьшилась на 26,09%. В 2016–2018 гг. наиболее напряженная эпизоотическая ситуация по африканской чуме среди домашних свиней сложилась в Советском, Раздольненском, Белогорском районах, а среди диких кабанов – в городском округе Судак. За данный период времени количество проводимых лабораторных исследований на африканскую чуму свиней в рамках как пассивного, так и активного мониторинга увеличилось: в 2015 г. было проведено всего 527 исследований, а в 2018 г. выполнено 7754 исследования. В 2018 г. в 8 образцах патологического материала от диких кабанов с использованием полимеразной цепной реакции был выявлен вирус африканской чумы свиней, что составило 0,1% от общего количества исследований, проведенных в Филиале ФГБУ «ВНИИЗЖ» и ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым». Реализация массовых диагностических исследований среди поголовья домашних свиней и диких кабанов способствовала быстрому выявлению вспышек и ликвидации заболевания. Следует отметить, что при возникновении африканской чумы свиней только среди домашних свиней болезнь удается искоренить с помощью комплекса общепринятых противозооотических мероприятий в первичных очагах. Невзирая на факты несанкционированных захоронений трупов домашних свиней, которые, вероятно, и послужили дальнейшему распространению инфекции в дикую фауну, инфекцию удалось ликвидировать, что доказывает эффективность проводимых профилактических мероприятий и мониторинговых исследований по недопущению распространения африканской чумы свиней и подтверждается отсутствием заболевания на территории Крымского полуострова в последние годы.

Ключевые слова: африканская чума свиней, дикий кабан, домашняя свинья, Республика Крым, эпизоотологический мониторинг

Благодарность: Исследование проведено за счет средств федерального бюджета в рамках государственного задания по теме «Оценка эпизоотической ситуации субпопуляций восприимчивых животных в субъектах Российской Федерации для подтверждения их благополучия по статусным инфекциям в соответствии с требованиями МЭБ и подготовка прогнозов возможного заноса и распространения трансграничных болезней животных с использованием методов моделирования и прогнозирования».

Для цитирования: Кошарный Н. Г., Данильченко С. И., Пасункина М. А., Гадзевич Д. В., Воротилова Н. Г. Африканская чума свиней на территории Республики Крым в 2015–2018 гг. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 239–247. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-239-247.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Кошарный Николай Геннадиевич, руководитель сектора лаборатории диагностики болезней животных лабораторно-диагностического центра Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, 295494, Россия, г. Симферополь, пос. Комсомольское, ул. Шоссейная, 21а, e-mail: kosharniy@arriah.ru.

African swine fever in the Republic of Crimea in 2015–2018

N. G. Kosharniy¹, S. I. Danylchenko², M. A. Pasunkina³, D. V. Gadzevich⁴, N. G. Vorotilova⁵

FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Simferopol, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0003-4710-3771>, e-mail: kosharniy@arriah.ru

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

³ <https://orcid.org/0000-0003-0921-0648>, e-mail: pasunkina@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-1750-6636>, e-mail: gadzevich@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-7309-4966>, e-mail: vorotilova@arriah.ru

SUMMARY

During the analyzed period of 2015–2018 number of pigs kept on backyards and in agricultural organizations as well as number of wild boars living in the Crimean lands declined by 25.34% and 26.09%, respectively, due to African swine fever introduction. In 2016–2018, ASF epizootic situation in domestic pigs and wild boars was the most complicated in the Sovetsky, Razdolnensky, Belogorsky Raions and in Sudak municipality, respectively. The unauthorized burials of dead domestic pigs, which could have caused the dangerous disease agent introduction into the wildlife were detected. Number of tests for ASF carried out within both passive and active monitoring increased during the said period: 527 tests were carried out in 2015 and 7,754 tests were carried out in 2018. In 2018, ASF virus was detected with polymerase chain reaction (PCR) in 8 samples of pathological materials from wild boars, that was 0.1% out of total number of the samples tested in the FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea and FGI RC "Regional State Veterinary Laboratory of the Republic of Crimea". Large-scale diagnostic tests performed in domestic pigs and wild boars contributed to rapid diagnosis of outbreaks and disease eradication. It should be noted that in case of ASF occurrence in domestic pigs only, the disease could be eradicated with a complex of anti-epizootic measures in initial outbreak areas. Absence of the disease in the Crimean Peninsula during the last years proves the effectiveness of the measures taken for ASF spread prevention.

Keywords: African swine fever, wild boar, domestic pig, Republic of Crimea, epizootological monitoring

Acknowledgements: The study was funded by Federal budget within the governmental programme: "Epidemic situation assessment in susceptible animal subpopulations in the Subjects of the Russian Federation for confirmation of the granted infection free status in accordance with the WOA recommendations and making predictions of possible transboundary disease introduction and spread using modeling and predicting methods".

For citation: Kosharny N. G., Danylchenko S. I., Pasunkina M. A., Gadzevich D. V., Vorotilova N. G. African swine fever in the Republic of Crimea in 2015–2018. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 239–247. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-239–247.

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

For correspondence: Nikolay G. Kosharny, Head of Sector, Laboratory for Animal Disease Diagnostics, Laboratory and Diagnosis Centre, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, 295494, Russia, Simferopol, pos. Komsomolskoye, Shosseynaya, 21a, e-mail: kosharniy@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Российская Федерация воспринимается в мире как непредсказуемо эндемичная территория по заразным болезням животных, представляющим угрозу мировому животноводству. В связи с этим чрезвычайно важным становится эпизоотологический надзор за опасными инфекционными болезнями [1–6].

При этом под эпизоотологическим надзором понимается процесс постоянного наблюдения за состоянием здоровья животных с регистрацией данных о распространении болезни и анализом собранной информации. Результаты надзора являются базой для прогнозирования развития эпизоотической ситуации и используются при разработке комплекса мероприятий по ограничению распространения возбудителей заразных болезней животных. Также он нужен для определения эпизоотического статуса конкретной территории в сфере международной торговли и перевозок [4, 6, 7].

В зависимости от используемой методологии и средств сбора данных надзор подразделяется на пассивный и активный. Первый в основном направлен на раннее выявление заражения животных (инцидентная диагностика). Активный надзор предусматривает более широкие популяционные исследования для определения превалентности болезни или доказательства ее отсутствия.

Исторически в России преобладали мероприятия, которые можно отнести к пассивному надзору, при этом исследования, которые можно было бы отнести к активному надзору, осуществлялись сравнительно редко.

В 2011 г. Российская Федерация вступила во Всемирную торговую организацию (ВТО). Одним из требований соглашения при вступлении России в ВТО является

ежегодный государственный лабораторный эпизоотологический надзор за особо опасными болезнями животных. В соответствии с этим приказом Россельхознадзора от 8 апреля 2011 г. № 120 был утвержден первый «План государственного лабораторного эпизоотологического мониторинга»¹. Реализуемые в рамках данного приказа исследования соответствовали характеру активного надзора, но, вероятно, чтобы не путать используемое в России понятие ветеринарного надзора с эпизоотологическим надзором, для его обозначения используется схожий термин – «мониторинг» [6, 8, 9].

Начиная с 2011 г. на территории Российской Федерации для выполнения соглашения ежегодно проводится государственный лабораторный эпизоотологический мониторинг по обширному списку заразных болезней животных, включая африканскую чуму свиней (АЧС) [8].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Информация о ситуации по АЧС, численности поголовья домашних свиней и диких кабанов на территории Республики Крым за 2015–2018 гг. была получена от Управления Федеральной службы государственной статистики по Республике Крым и г. Севастополь, Управления Россельхознадзора по Республике Крым и г. Севастополь, Государственного комитета ветеринарии Республики Крым, Министерства сельского хозяйства Республики Крым, Государственного комитета по лесному и охотничьему хозяйству Республики Крым. Методика определения численности дикого кабана не уточнялась.

¹ О лабораторных исследованиях в рамках реализации мероприятий Россельхознадзора для обеспечения выполнения требований Соглашения ВТО по СФС при вступлении России в ВТО на 2011 год: утв. приказом Россельхознадзора от 08.04.2011 № 120. Режим доступа: <https://base.garant.ru/2175474/>.

Образцы патологического материала от домашних свиней и диких кабанов для исследования были предоставлены районными ветеринарно-профилактическими центрами и охотхозяйствами Республики Крым и г. Севастополь по согласованию с Управлением Россельхознадзора по Республике Крым и г. Севастополь. Методика отбора проб патологического материала в сопроводительных документах не указывалась.

Результаты лабораторных исследований на АЧС предоставлены ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» и дополнены данными, полученными в рамках выполнения государственного эпизоотологического мониторинга АЧС лабораторией молекулярной диагностики лабораторно-диагностического центра Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым.

Выделение ДНК вируса АЧС из исследуемых образцов осуществляли сорбентным методом в соответствии с инструкцией по применению комплекта реагентов для экстракции ДНК из клинического материала «Ампли Прайм ДНК-сорб-В» (ООО «НекстБио», Россия).

Полимеразную цепную реакцию в режиме реального времени (ПЦР) проводили с использованием тест-системы «АЧС» для выявления вируса африканской чумы свиней (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) в амплификаторе Rotor-Gene Q (QIAGEN GmbH, Германия).

Анализ зарегистрированных вспышек АЧС в Республике Крым был проведен на основе открытых публикаций баз данных Россельхознадзора и Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ) [8, 10].

Картографический материал предоставлен информационно-аналитическим центром управления ветнадзора ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир).

Целью данной работы являлся общий обзор ситуации по АЧС в Республике Крым в 2015–2018 гг., изучение динамики численности поголовья диких кабанов и домашних свиней, а также анализ данных пассивного и активного мониторинга с целью выявления риска заноса и степени распространения заболевания на территории региона.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на благополучие Республики Крым по АЧС, в 2015 г. был создан штаб по профилактике болезни. Данная мера продиктована территориальным расширением эпизоотии этого заболевания на Украине. По информации Государственного комитета ветеринарии Республики Крым, сотрудники ведомства контролировали состояние здоровья диких кабанов, обитающих на востоке полуострова, и совместно со специалистами Россельхознадзора участвовали в проверках продовольствия, поставляемого в Крым с Украины [11, 12].

В 2015 г. численность диких кабанов на территории Республики Крым составляла 2300 особей, а поголовье домашних свиней – 167 151 гол., из которых 77 340 содержались в личных подсобных хозяйствах (ЛПХ) и 89 811 – в сельскохозяйственных организациях (СХО) [13–15].

ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» в 2015 г. в рамках пассивного мониторинга с целью выявления риска заноса и степени распространения АЧС в регионе было исследовано методом ПЦР 527 проб патологического и биологического материала от домашних свиней из ЛПХ, СХО и диких кабанов (табл. 1).

От домашних свиней, принадлежащих СХО и ЛПХ, было отобрано 158 и 145 образцов патологического (биологического) материала соответственно, что составило 0,18 и 0,19% от общей численности поголовья. Было исследовано 224 пробы патологического материала, полученные от диких кабанов, что составило 9,74% от имеющегося поголовья популяции. Геном вируса АЧС в данных образцах не обнаружен.

По результатам исследований за 2015 г. Республика Крым считалась благополучной по АЧС, однако вспышки данного заболевания среди домашних свиней и диких кабанов регистрировались в приграничных странах и Краснодарском крае [11, 16, 17].

В 2016 г. в Республике Крым поголовье диких кабанов уменьшилось на 23,22% (1766 особей), а численность домашних свиней сократилась на 13,47% и составила 79 578 голов в ЛПХ и 65 062 голов в СХО [11, 15, 18].

По данным Государственного комитета ветеринарии Республики Крым и территориального управления Россельхознадзора, первая вспышка АЧС в регионе была отмечена в конце января 2016 г. в фермерском хозяйстве (с. Новоселовское Раздольненского района) и прилегающим к нему территориям, где были обнаружены несанкционированные захоронения домашних свиней. На сайте Управления Россельхознадзора было размещено сообщение о введенном карантине. Позже

Таблица 1

Лабораторные исследования на АЧС, выполненные ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» в 2015 г.

Table 1

Laboratory tests for ASF carried out by the FGI RC "Regional State Veterinary Laboratory of the Republic of Crimea" in 2015

Район Республики Крым	Патологический (биологический) материал			
	от домашних свиней		от диких кабанов	
	количество проб	результаты ПЦР-исследования	количество проб	результаты ПЦР-исследования
Бахчисарайский	16	–	132	–
Белогорский	16	–	25	–
Джанкойский	15	–	–	–
Кировский	2	–	2	–
Красногвардейский	158	–	–	–
Красноперекопский	15	–	–	–
Ленинский	10	–	1	–
Нижнегорский	10	–	–	–
Первомайский	15	–	–	–
Раздольненский	10	–	–	–
Сакский	15	–	–	–
Симферопольский	5	–	22	–
Советский	5	–	–	–
Черноморский	10	–	–	–
Алушта/Ялта	–	–	22	–
Симферополь	1	–	–	–
Судак	–	–	20	–
Всего	303	0	224	0

Таблица 2

Лабораторные исследования на АЧС, выполненные ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» в 2016 г.

Table 2

Laboratory tests for ASF carried out by the FGI RC «Regional State Veterinary Laboratory of the Republic of Crimea» in 2016

Район Республики Крым	Патологический (биологический) материал			
	от домашних свиней		от диких кабанов	
	количество проб	результаты ПЦР-исследования	количество проб	результаты ПЦР-исследования
Бахчисарайский	146	–	41	–
Белогорский	80	–	21	–
Джанкойский	81	–	–	–
Кировский	45	–	–	–
Красногвардейский	936	–	–	–
Красноперекопский	135	–	–	–
Ленинский	103	–	–	–
Нижегородский	30	–	–	–
Первомайский	92	3	–	–
Раздольненский	220	26	–	–
Сакский	137	–	–	–
Симферопольский	240	–	11	–
Советский	35	–	–	–
Черноморский	127	–	–	–
Алушта/Ялта	1	–	1	–
Керчь	4	–	–	–
Симферополь	4	–	2	–
Судак	10	–	–	–
Феодосия	4	–	11	–
Всего	2430	29	87	0

очаги инфекции выявили в Белогорском (с. Ароматное) и Ленинском районах [8, 11, 15].

На территории Республики Крым были выявлены многочисленные несанкционированные захоронения и трупы домашних свиней, что способствовало выносу возбудителя опасной болезни в дикую фауну. Так, в январе 2016 г. на побережье городского пляжа г. Евпатория был обнаружен труп дикого кабана. При лабораторных исследованиях отобранных от него проб патологического материала методом ПЦР, одновременно проведенных в ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» и референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», был обнаружен генетический материал вируса АЧС.

С 8 февраля 2016 г. в Республике Крым в связи со вспышкой АЧС был введен режим чрезвычайной ситуации природного характера.

В ноябре того же года в Первомайском районе на свиноводческой ферме и Ленинском районе (с. Песочное) были зафиксированы вспышки заболевания.

По данным Управления Россельхознадзора, в карантинную зону вошли три населенных пункта: с. Песочное,

с. Останино и с. Зеленый Яр. При этом в ЛПХ, где произошла вспышка, было выявлено и уничтожено 180 гол. зараженных свиней, что составило 0,23% от общего поголовья хозяйств [8, 11].

В 2016 г. в рамках пассивного мониторинга АЧС на территории региона ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» провела 2517 исследований патологического и биологического материала от свиней, содержащихся в ЛПХ, СХО, и диких кабанов методом ПЦР (табл. 2).

От домашних свиней, выращиваемых в СХО, было исследовано 1176 образцов патологического и биологического материала, от свиней из ЛПХ – 1254 пробы, что составило 1,81 и 1,58% от общей численности поголовья соответственно. От диких кабанов было отобрано и исследовано 87 образцов патологического материала, что составило 4,93% от учтенного на полуострове поголовья.

Следует отметить, что геном вируса АЧС был выявлен в 29 пробах патологического материала от домашних свиней ЛПХ, что составило 1,15% от общего числа проведенных исследований.

Согласно данным Управления Россельхознадзора, в 2016 г. на территории Белогорского, Ленинского, Советского, Первомайского и Раздольненского районов было выявлено и официально подтверждено семь очагов АЧС среди домашних свиней (с. Ароматное, с. Песочное, с. Дмитровка, с. Чапаево, с. Новоселовское, с. Березовка, п. Раздольное). В неблагополучных пунктах было уничтожено 268 голов зараженных домашних свиней из ЛПХ, т. е. 0,34% от общей численности поголовья животных в данных хозяйствах (рис. 1).

На начало 2017 г. поголовье домашних свиней на полуострове уменьшилось на 9,15% (66 489 гол. в ЛПХ и 64 913 гол. в СХО), а численность диких кабанов сократилась на 11,10% (1570 особей) по сравнению с 2016 г. [15, 18].

Первые вспышки АЧС в 2017 г. были зафиксированы в январе в частном секторе на территории с. Дмитровка Советского района. В связи с этим был введен режим чрезвычайной ситуации локального уровня и карантин (рис. 2).

В марте того же года очаги АЧС были выявлены в с. Карасевка (Белогорский район), а также на территории Советского района (вблизи с. Заветное и с. Дмитровка), где обнаружены два места несанкционированного захоронения трупов свиней. Результаты лабораторных исследований, проведенных в ФГБУ «ВНИИЗЖ», показали, что в ряде образцов, взятых с места захоронения, присутствовал геном вируса АЧС [8, 11, 12].

В мае 2017 г. в 2,5–3 км от с. Громовка (городской округ Судак), в 1,5 км от г. Судак и в 1,3 км от с. Ферсманово (Добровское сельское поселение Симферопольского района) были найдены трупы диких кабанов. При исследовании образцов патологического материала от трупов животных в ФГБУ «ВНИИЗЖ» был обнаружен геном вируса АЧС [8, 11].

Ранее территориальное управление Россельхознадзора по Республике Крым сообщало о выявлении несанкционированных свалок трупов животных в Белогорском и Советском районах, во всех отобранных образцах биоматериала от павших свиней присутствовал геном вируса АЧС. Под карантин попали окрестности с. Межгорье (Зеленогорское сельское поселение Белогорского района), где были обнаружены трупы диких кабанов, и три объекта вблизи с. Курортное

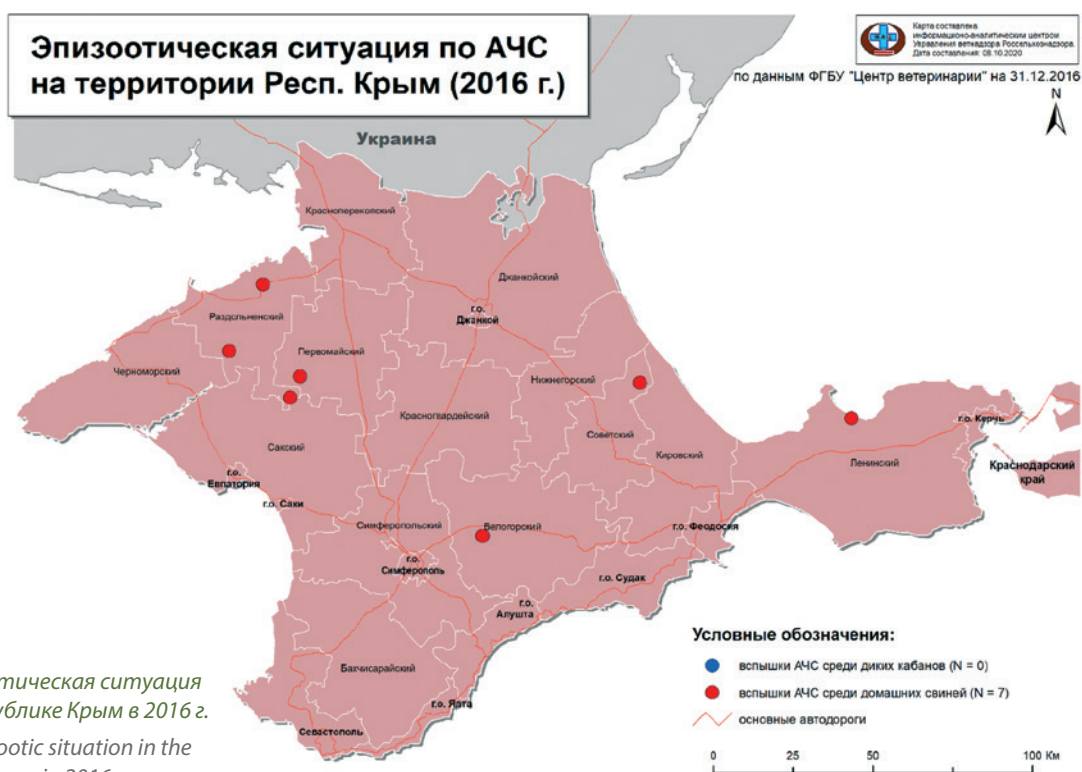


Рис. 1. Эпизоотическая ситуация по АЧС в Республике Крым в 2016 г.

Fig. 1. ASF epizootic situation in the Republic of Crimea in 2016

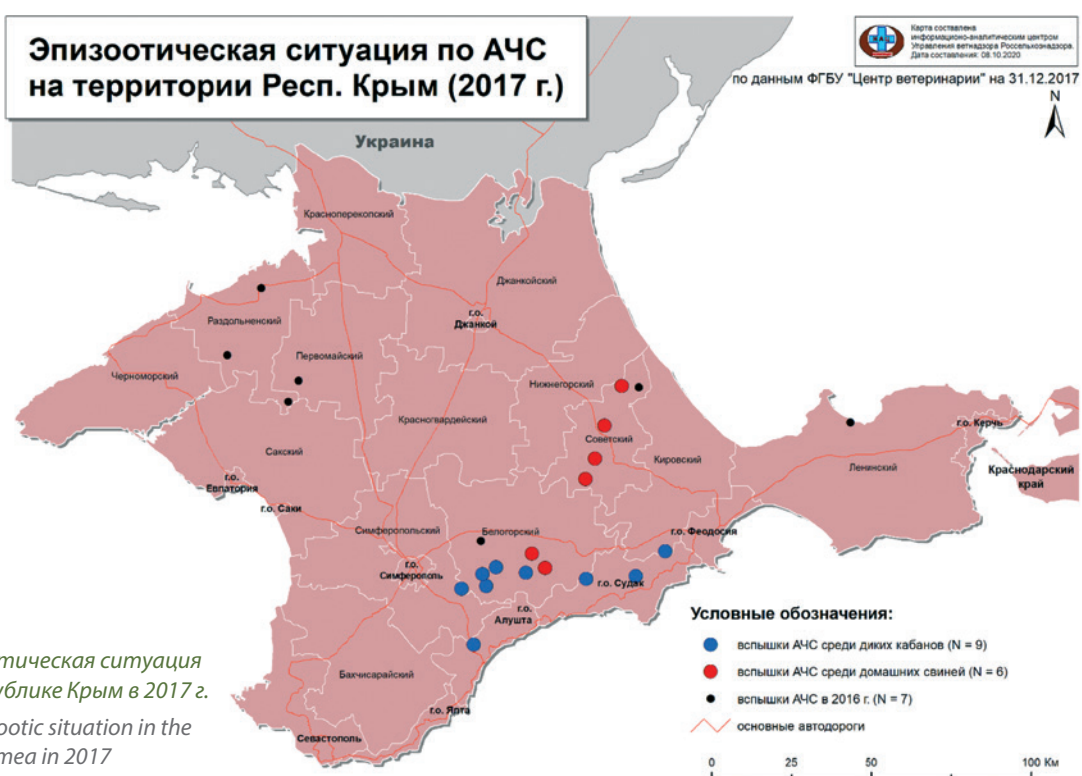


Рис. 2. Эпизоотическая ситуация по АЧС в Республике Крым в 2017 г.

Fig. 2. ASF epizootic situation in the Republic of Crimea in 2017

(Ароматновское сельское поселение Белогорского района), в которых выявили останки вепрей. Три зоны городского округа Судак (в 2,5 и 3 км северо-западнее с. Громовка и в 1,5 км северо-западнее г. Судак) также попали в зону действия карантина. Специалисты Россельхознадзора отметили, что речь идет об очагах АЧС в дикой фауне [8, 11, 12].

Несмотря на то что с июня 2017 г. новые вспышки АЧС на территории Республики Крым не регистриро-

вались, государственная ветеринарная служба региона продолжала проводить профилактические мероприятия, направленные на предотвращение возникновения и распространения заболевания.

В октябре 2017 г. было обнаружено захоронение восьми трупов свиней на расстоянии 1,47 км севернее пгт Советский. При лабораторных исследованиях в пробах патологического материала от всех трупов животных выявлен геном вируса АЧС [8, 11, 12].

Таблица 3
Лабораторные исследования на АЧС в Республике Крым в 2017 г.

Table 3
Laboratory tests for ASF carried out in 2017

Район Республики Крым	ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» (пассивный мониторинг)				Филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым (активный мониторинг)			
	патологический (биологический) материал							
	от домашних свиней		от диких кабанов		от домашних свиней		от диких кабанов	
	количество проб	результаты ПЦР-исследования	количество проб	результаты ПЦР-исследования	количество проб	результаты ПЦР-исследования	количество проб	результаты ПЦР-исследования
Бахчисарайский	324	—	45	—	—	—	—	—
Белогорский	110	—	19	—	—	—	5	—
Джанкойский	330	—	—	—	—	—	—	—
Кировский	75	—	4	1	—	—	—	—
Красногвардейский	1600	—	—	—	200	—	—	—
Красноперекопский	107	—	—	—	—	—	—	—
Ленинский	100	—	—	—	—	—	—	—
Нижегородский	100	—	—	—	—	—	—	—
Первомайский	256	—	—	—	—	—	—	—
Раздольненский	225	—	—	—	—	—	—	—
Сакский	230	—	—	—	—	—	—	—
Симферопольский	435	—	8	—	200	—	13	—
Советский	25	—	—	—	38	13	—	—
Черноморский	190	—	—	—	—	—	—	—
Севастополь	-	—	—	—	—	—	53	—
Алушта/Ялта	5	—	—	—	—	—	7	—
Евпатория	5	—	—	—	—	—	—	—
Керчь	11	—	—	—	—	—	—	—
Симферополь	20	—	13	5	—	—	—	—
Судак	10	—	—	—	—	—	—	—
Феодосия	15	—	—	—	—	—	—	—
Всего	4173	0	89	6	438	13	78	0

В 2017 г. в рамках активного мониторинга с целью выявления риска заноса и степени распространения АЧС на территории региона Филиалом ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым было проведено 516 исследований патологического и биологического материала от свиней ЛПХ, СХО и диких кабанов методом ПЦР. При этом ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» выполнила 4262 исследования за этот же период (табл. 3).

Специалистами лаборатории молекулярной диагностики Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым был исследован патологический и биологический материал от домашних свиней СХО (200 образцов) и ЛПХ (238 проб), что составило 0,31 и 0,36% от численности поголовья животных в хозяйствах разных форм собственности соответственно.

От диких кабанов для исследования было отобрано 78 образцов патологического материала (4,97% от численности поголовья).

Геном вируса АЧС был выявлен в 13 пробах патологического материала от домашних свиней ЛПХ, что

составило 2,52% от общего количества выполненных в филиале ПЦР-исследований за 2017 г.

ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» провела исследование 2254 образцов (3,47% от поголовья) патологического и биологического материала от свиней СХО и 1919 проб (2,89% от поголовья), полученных из ЛПХ. От диких кабанов было исследовано 89 образцов патологического материала (5,67% от учетного поголовья).

Геном вируса АЧС был выявлен в 6 пробах патологического материала от диких кабанов, что составило 0,14% от общего количества ПЦР-исследований, выполненных за отчетный период в лаборатории.

По данным Россельхознадзора, за 2017 г. на территории Республики Крым зарегистрировано 15 очагов заболевания АЧС, из них 6 – среди домашнего поголовья свиней ЛПХ и 9 – в популяции диких кабанов. Неблагополучными по АЧС были признаны шесть населенных пунктов Советского и Белогорского районов: с. Лучевое, с. Хлебное, с. Дмитровка, с. Ровенка, с. Алексеевка, с. Карасевка.

В популяции диких кабанов вспышки АЧС были зафиксированы вблизи с. Громовка (городской округ Судак), с. Ферсманово, с. Дружное (Симферопольский район), возле с. Межгорье, с. Курортное и с. Земляничное (Белогорский район), а также п. Лаванда (городской округ Алушта) (рис. 2).

На начало 2018 г. в Республике Крым численность поголовья дикого кабана увеличилась на 7,65% и составила 1700 особей, тогда как численность домашних свиней сократилась на 5,02% (59 900 гол. в ЛПХ и 64 900 гол. в СХО) [8, 11, 12, 15].

В 2018 г. в рамках активного мониторинга с целью выявления риска заноса и степени распространения АЧС на территории региона Филиалом ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым было проведено 1000 исследований патологического и биологического материала от свиней ЛПХ, СХО, а также диких кабанов методом ПЦР. ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» выполнила 6754 исследования (табл. 4).

В феврале 2018 г. специалистами Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым при исследовании патологического материала от трупов диких

кабанов, обнаруженных южнее квартала Асрет (городской округ Судак), идентифицирован геном вируса АЧС. Данные результаты были подтверждены референтной лабораторией по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир).

В апреле 2018 г. сотрудниками ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» в патологическом материале от диких кабанов (с. Межгорье Белогорского района) также был обнаружен геном вируса АЧС (рис. 3).

В общей сложности в 2018 г. от домашних свиней, принадлежащих СХО, было исследовано 3455 образцов патологического и биологического материала, от свиней из ЛПХ – 3723 проб, что составило 5,32 и 6,22% от численности поголовья животных в хозяйствах разных форм собственности соответственно [8, 11, 8]. От диких кабанов было исследовано 576 образцов патологического материала (33,88% от численности поголовья). Геном вируса АЧС был выявлен в 8 пробах патологического материала, что составило 0,1% от общего количества ПЦР-исследований, выполненных в Филиале ФГБУ «ВНИИЗЖ» и ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым».

Таблица 4
Лабораторные исследования на АЧС в Республике Крым в 2018 г.

Table 4
Laboratory tests for ASF carried out in 2018

Район Республики Крым	ГБУ РК «Региональная государственная ветеринарная лаборатория Республики Крым» (пассивный мониторинг)				Филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым (активный мониторинг)			
	патологический (биологический) материал							
	от домашних свиней		от диких кабанов		от домашних свиней		от диких кабанов	
	количество проб	результаты ПЦР-исследования	количество проб	результаты ПЦР-исследования	количество проб	результаты ПЦР исследования	количество проб	результаты ПЦР-исследования
Бахчисарайский	219	—	294	—	60	—	—	—
Белогорский	168	—	38	3	26	—	—	—
Джанкойский	463	—	—	—	45	—	5	—
Кировский	270	—	3	—	—	—	—	—
Красногвардейский	1882	—	—	—	—	—	—	—
Красноперекопский	314	—	—	—	—	—	—	—
Ленинский	156	—	—	—	—	—	—	—
Нижнегорский	190	—	—	—	65	—	—	—
Первомайский	300	—	—	—	150	—	—	—
Раздольненский	191	—	—	—	50	—	—	—
Сакский	590	—	—	—	—	—	—	—
Симферопольский	1023	—	60	—	400	—	7	—
Советский	146	—	—	—	—	—	—	—
Черноморский	199	—	—	—	56	—	2	—
Севастополь	148	—	—	—	—	—	127	—
Алушта/Ялта	5	—	—	—	—	—	2	—
Керчь	12	—	—	—	—	—	—	—
Симферополь	20	—	3	—	—	—	—	—
Судак	10	—	—	—	—	—	5	5
Феодосия	20	—	30	—	—	—	—	—
Всего	6326	0	428	3	852	0	148	5



Рис. 3. Эпизоотическая ситуация по АЧС в Республике Крым в 2018 г.

Fig. 3. ASF epizootic situation in the Republic of Crimea in 2018

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Африканская чума свиней на территории Республики Крым не регистрировалась до 2016 г. Поскольку логистика в республике устроена таким образом, что продукция поступает не только из субъектов РФ, то вирус АЧС может быть завезен любым способом: начиная от несанкционированных перемещений домашних животных, которые, возможно, инфицированы вирусом АЧС, и продукции, выработанной из них, заканчивая скупщиками животных, продавцами кормов и др.

К сожалению, именно человеческий фактор чаще всего играет ведущую роль в распространении вируса АЧС, о чем свидетельствуют факты незаконных захоронений трупов домашних свиней, что, вероятно, послужило причиной заражения животных в дикой фауне.

Вследствие заноса АЧС на территорию Крымского полуострова в течение 2016–2018 гг. были уничтожены тысячи голов свиней. Наиболее напряженная эпизоотическая ситуация по АЧС среди домашних свиней сложилась в Советском, Раздольненском, Белогорском районах, а среди диких кабанов – в городском округе Судак. В результате за данный период численность поголовья домашних свиней, содержащихся в ЛПХ и СХО, сократилась на 25,34%, а популяция дикого кабана уменьшилась на 26,09%.

Количество лабораторных исследований, выполненных в рамках пассивного и активного мониторинга с целью выявления риска заноса и степени распространения АЧС на территории региона, с 2015 по 2018 г. увеличилось в десятки раз. Так, в 2015 г. было исследовано 527 проб патологического и биологического материала от домашних свиней и диких кабанов, а в 2018 г. – 7754. Проведение широкомасштабных диагностических исследований среди поголовья домашних свиней и диких кабанов способствовало быстрому выявлению вспышек и своевременному осуществлению противоэпизоотических мероприятий.

Благодаря оперативным мероприятиям по недопущению распространения АЧС заболевание удалось ликвидировать, что подтверждают результаты мониторинговых исследований в Республике Крым в последующие годы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. 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.
2. Макаров В. В. Африканская чума свиней. М.: Российский университет дружбы народов; 2011, 268 с. Режим доступа: https://givr.yazangov.ru/upload/iblock/dbc/asf_makarov.pdf.
3. 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.
4. Боев Б. В., Макаров В. В., Сухарев О. И., Литвинов О. Б. Дикий европейский кабан. Моделирование и прогнозирование природно-очаговой африканской чумы свиней. *Ветеринария*. 2010; 12: 18–23. eLIBRARY ID: 15579203.
5. Донченко А. С., Глотов А. Г., Прудников С. И., Глотова Т. И., Донченко Н. А., Рыжиков А. Б. и др. Африканская чума свиней в России: эпизоотическая ситуация, принципы разработки вакцин и мероприятий по контролю болезни. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2013; 6: 51–58. eLIBRARY ID: 21009959.
6. ФАО. Африканская чума свиней в Российской Федерации (2007–2012 гг.): эпидемиологический обзор и последствия для стран Европы. Рим; 2014. Режим доступа: <https://www.fao.org/3/i3748r/i3748r.pdf>.
7. Груздев К. Н. Современная эпизоотическая ситуация по африканской чуме свиней (АЧС) и тенденции ее изменений. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2014; 8: 18–24. eLIBRARY ID: 22445602.
8. Россельхознадзор. Эпидситуация по АЧС в Российской Федерации. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/ru/iac/rf/achs>.
9. Infection with African swine fever virus. In: WOAH. *Terrestrial Animal Health Code. Chapter 15.1*. Режим доступа: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/current/chapitre_asf.pdf.
10. World Organisation for Animal Health. African swine fever. Режим доступа: <https://www.woah.org/en/disease/african-swine-fever>.
11. Государственный комитет ветеринарии Республики Крым. Режим доступа: <https://gkvet.rk.gov.ru>.

12. Петрова О. Н., Коренной Ф. И., Таценко Е. Е., Караулов А. К., Гуленкин В. М. Прогноз по африканской чуме свиней в Российской Федерации на 2018 год. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2018. 37 с. Режим доступа: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/asf_prognoz18.pdf.

13. Информационно-аналитическая система «Особо охраняемые природные территории России» (ИАС «ООПТ РФ»). Режим доступа: <http://oopt.aari.ru>.

14. Производство продукции животноводства и поголовье сельскохозяйственных животных по Республике Крым (пересчитанные данные с учетом итогов ВСХП-2016): статистический сборник. Симферополь; 2019. 18 с. Режим доступа: https://crimea.gks.ru/storage/mediabank/животноводство_пересчет_ВСХП-2016.pdf.

15. Министерство сельского хозяйства Республики Крым. Режим доступа: <https://msh.rk.gov.ru>.

16. Караулов А. К., Шевцов А. А., Петрова О. Н., Коренной Ф. И., Вадополас Т. В. Прогноз до 2025 г. по распространению африканской чумы свиней в России. *Ветеринария и кормление*. 2018; 3: 12–14. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-3-4.

17. Герасимов В. Н., Колбасов Д. В., Тотиков З. Д., Елкина Л. Г., Кузьмин В. А., Орехов Д. А., Фогель Л. С. Эпизоотологические особенности африканской чумы свиней в Южном федеральном округе РФ. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. 2015; 1: 26–28. eLIBRARY ID: 23199799.

18. Управление Федеральной службы государственной статистики по Республике Крым и г. Севастополю. Режим доступа: <https://crimea.gks.ru>.

REFERENCES

1. Makarov V. V., Vasilevich F. I., Boyev B. V., Sukharev O. I. African swine fever endemicity. Moscow: Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin/Russian People's Friendship University; 2014. 66 p. Available at: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/news/asf/asf_makarov/makarov_ochag_asf.pdf. (in Russ.)

2. 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.)

3. Makarov V. V., Igoikin 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.)

4. Boev B. V., Makarov V. V., Sukharev O. I., Litvinov O. B. Wild boar. Modeling and prognosis for natural nidal African swine fever. *Veterinariya*. 2010; 12: 18–23. eLIBRARY ID: 15579203. (in Russ.)

5. Donchenko A. S., Glotov A. G., Prudnikov S. I., Glotova T. I., Donchenko N. A., Ryzhikov A. B., et al. African swine fever in Russia: epizootic situa-

tion, principles of vaccine development and disease control measures. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2013; 6: 51–58. eLIBRARY ID: 21009959. (in Russ.)

6. FAO. African swine fever in the Russian Federation (2007–2012): epizootological review and consequences for European countries. Rome; 2014. Available at: <https://www.fao.org/3/i3748r/i3748r.pdf>. (in Russ.)

7. Gruzdev K. N. Present-day african swine fever (ASF) epidemic situation and tendencies for its change. *Veterinariya, zootehnika i biotekhnologiya*. 2014; 8: 18–24. eLIBRARY ID: 22445602. (in Russ.)

8. Rosselkhoznadzor. ASF epizootic situation in the Russian Federation. Available at: <https://fsvps.gov.ru/ru/iac/rf/achs>. (in Russ.)

9. Infection with African swine fever virus. In: WOA. *Terrestrial Animal Health Code. Chapter 15.1*. Available at: [https://www.woah.org/fileadmin/](https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/current/chapitre_asf.pdf)

10. World Organisation for Animal Health. African swine fever. Available at: <https://www.woah.org/en/disease/african-swine-fever>.

11. State Veterinary Committee of the Republic of Crimea. Available at: <https://gkvet.rk.gov.ru>. (in Russ.)

12. Petrova O. N., Korennoy F. I., Tatsenko E. E., Karaulov A. K., Gulenkin V. M. Prediction for ASF in the Russian Federation for 2018. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2018. 37 p. Available at: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/asf_prognoz18.pdf. (in Russ.)

13. Information analysis system "Specially protected natural territories of Russia" (IAS "SPNTR"). Available at: <http://oopt.aari.ru>. (in Russ.)

14. Production of animal products and number of livestock animals in the Republic of Crimea (recalculated data taking into account of the All-Russia Agricultural Census of 2016 results): statistics digest. Simferopol; 2019; 18 p. Available at: https://crimea.gks.ru/storage/mediabank/животноводство_пересчет_ВСХП-2016.pdf. (in Russ.)

15. Ministry of Agriculture of the Republic of Crimea. Available at: <https://msh.rk.gov.ru>. (in Russ.)

16. Karaulov A. K., Shevtcov A. A., Petrova O. N., Korennoy F. I., Vadopolas T. V. The forecast of african swine fever spread in Russia until 2025. *Veterinariya i kormlenie*. 2018; 3: 12–14. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-3-4. (in Russ.)

17. Gerasimov V., Kolbasov D., Totikov Z., Yolkina L., Kuzmin V., Orekhov D., Fogel L. Epizootologichesky features of african swine fever in the southern federal district of Russia. *Legal regulation in veterinary medicine*. 2015; 1: 26–28. eLIBRARY ID: 23199799. (in Russ.)

18. Rosstat regional office of Republic of Crimea and Sevastopol. Available at: <https://crimea.gks.ru>. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 19.04.2022

Поступила после рецензирования / Revised 19.05.2022

Принята к публикации / Accepted 21.06.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Кошарный Николай Геннадиевич, руководитель сектора лаборатории диагностики болезней животных лабораторно-диагностического центра Филиала ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия.

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

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

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

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

Nikolay G. Kosharny, Head of Sector, Laboratory for Animal Disease Diagnostics, Laboratory and Diagnosis Centre, FGBI "ARRIAH" Branch in the Republic of Crimea, Russia.

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

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

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

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



Комплекс мероприятий по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота

А. Р. Ягудин¹, С. А. Счисленко², И. А. Усова³, И. Я. Строганова⁴

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ), г. Красноярск, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-9851-2674>, e-mail: npayagudin@gmail.com

² <https://orcid.org/0000-0002-0578-1681>, e-mail: shislenko@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-2941-1738>, e-mail: dogmara-7@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-4118-3862>, e-mail: i.ya.strog@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Лейкоз крупного рогатого скота — одно из наиболее распространенных инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных, наносящих значительный экономический ущерб вследствие недополучения продуктов животноводства, преждевременной выбраковки и убоя коров и быков-производителей. Болезнь требует особого внимания и контроля со стороны специалистов ветеринарной и зоотехнической служб хозяйств. В статье кратко охарактеризована эпизоотическая обстановка по лейкозу крупного рогатого скота на территории Российской Федерации в 2004–2020 гг., а также представлены результаты изучения ситуации по заболеванию за 2015–2021 гг. в ООО «Сибирская Нива» Иркутской области и оценена эффективность оздоровительно-профилактических мероприятий, проведенных в хозяйстве. Приведена краткая характеристика сельскохозяйственного предприятия: зоогигиенические показатели, зоотехнические, ветеринарные и лечебно-профилактические (дезинсекция, дератизация, вакцинация) мероприятия. На основании полученных данных была установлена первопричина появления лейкоза крупного рогатого скота в хозяйстве: предположительно, источником вируса явились ввезенные помесные животные. Для ликвидации заболевания в ООО «Сибирская Нива» разработан план оздоровительно-профилактических мероприятий, включающий ветеринарные, зоотехнические и организационно-хозяйственные процедуры. В результате проведенной работы с 2015 по 2019 г. инфицированность среди коров и телок снизилась в 6,42 и 2,78 раза соответственно. При этом общий уровень инфицированности животных уменьшился на 9,9%. Благодаря целенаправленной работе, проводимой государственной ветеринарной службой, к 2020 г. удалось добиться стабильного снижения уровня инфицированности животных. На примере данного сельхозпредприятия доказана эффективность спланированного с учетом особенностей хозяйства комплексного подхода, позволившего в короткие сроки провести оздоровление хозяйства от лейкоза крупного рогатого скота.

Ключевые слова: лейкоз, вирус лейкоза крупного рогатого скота, гематологические исследования, серологические исследования, оздоровительно-профилактические мероприятия

Для цитирования: Ягудин А. Р., Счисленко С. А., Усова И. А., Строганова И. Я. Комплекс мероприятий по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 248–253. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-248-253.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Ягудин Александр Ринатович, врач-ординатор кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ, 660049, Россия, г. Красноярск, пр. Мира, 90, e-mail: npayagudin@gmail.com.

Bovine leukosis control measures

A. R. Yagudin¹, S. A. Schislenko², I. A. Usova³, I. Ya. Stroganova⁴

FSBEI HE “Krasnoyarsk State Agrarian University” (FSBEI HE KrasSAU), Krasnoyarsk, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-9851-2674>, e-mail: npayagudin@gmail.com

² <https://orcid.org/0000-0002-0578-1681>, e-mail: shislenko@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-2941-1738>, e-mail: dogmara-7@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-4118-3862>, e-mail: i.ya.strog@mail.ru

SUMMARY

Bovine leukosis is one of the most common infectious diseases of farm animals, causing significant economic damage due to a decrease in production of livestock products, premature culling and slaughter of cows and servicing bulls. The disease needs special attention and control on behalf of the on-farm veterinarians and zootechnicians. The article briefly describes epizootic situation on bovine leukosis in the Russian Federation in 2004–2020. It also includes a report on the disease situation in “Sibirskaia Niva” LLC (the Irkutsk Oblast) for 2015–2021 and assesses effectiveness of health support and disease prevention measures taken on the farm. The paper gives a brief description of the agricultural establishment: its zoosanitary status as well as zootechnical, veterinary, therapeutic and preventive measures (disinsection, deratization, vaccination). Based on the data obtained, we found the ultimate cause of bovine leukosis on the farm: presumably, these were crossbred animals brought into the farm. In order to eradicate the disease, “Sibirskaia Niva” LLC has developed a plan on health support and disease prevention, which includes veterinary, zootechnical and economic measures. Thus, due to the actions taken from 2015 to 2019, the number of infected cows and heifers reduced

by 6.42 and 2.78 times, correspondingly. At the same time, the overall number of infected animals decreased by 9.9%. Task-oriented measures taken by the state veterinary services made it possible to steadily reduce the number of infected animals by 2020. The comprehensive approach embracing the farm peculiarities has proven to be effective to quickly eliminate bovine leukosis, as the above-mentioned agricultural establishment exemplified it.

Keywords: leukosis, bovine leukosis virus, hematologic tests, serological tests, health support and preventive measures

For citation: Yagudin A. R., Schislenko S. A., Usova I. A., Stroganova I. Ya. Bovine leukosis control measures. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 248–253. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-248-253.

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

For correspondence: Alexander R. Yagudin, Medical Resident, Department of Epizootology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise, FSBEI HE KrasSAU, 660049, Russia, Krasnoyarsk, pr. Mira, 90, e-mail: npayagudin@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Лейкоз крупного рогатого скота – хроническая инфекционная болезнь, вызываемая вирусом лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС, BLV – bovine leukemia virus). Ущерб от заболевания в хозяйстве складывается из недополучения молока, приплода и продуктов убоя, преждевременной выбраковки коров и быков-производителей [1].

Лейкоз регистрируют в большинстве стран мира с развитым животноводством. Наибольшее распространение наблюдается в США, ряде стран Центральной Европы, а также в Дании и Швеции. По данным отчета информационно-аналитического центра Россельхознадзора по эпизоотической ситуации в Российской Федерации, за 2020 г. в стране зарегистрировано 18 636 случаев заражения животных и выявлено 442 неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота пункта [1–6]. Годовая динамика количества неблагополучных по заболеванию пунктов, представленная на рисунке 1, свидетельствует о том, что многолетний тренд восходящий.

В 2020 г. новые очаги лейкоза КРС были зарегистрированы в Алтайском, Краснодарском, Пермском, Приморском, Хабаровском краях, республиках Дагестан, Ингушетия, Калмыкия, Карелия, Крым, Северная Осетия, Татарстан, Ханты-Мансийском автономном округе, Амурской, Астраханской, Владимирской, Воронежской, Иркутской, Калининградской, Калужской, Кировской, Курганской, Курской, Новгородской, Тюменской и Челябинской областях [5, 6].

Рост заболеваемости лейкозом животных, отсутствие эффективных средств и методов профилактики обуславливают актуальность проблемы данной патологии, решение которой важно не только для ветеринарии, но и для биологии в целом [7, 8].

Цель исследования – провести оценку комплекса мероприятий по борьбе с лейкозом КРС в ООО «Сибирская Нива».

Для ее достижения были поставлены следующие задачи:

- изучить эпизоотическую ситуацию по лейкозу КРС в ООО «Сибирская Нива»;
- проанализировать комплекс мероприятий по борьбе с лейкозом КРС в ООО «Сибирская Нива»;
- оценить эффективность проводимых мероприятий за последние 7 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Практической основой для изучения эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в ООО «Сибирская Нива» (Иркутская область), а также оценки мероприятий по борьбе с данным заболеванием послужили документы первичного ветеринарного учета и ветеринарной отчетности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На фермах ООО «Сибирская Нива» содержатся животные одного вида – крупный рогатый скот чернопестрой породы молочного направления. Вблизи хозяйства нет проезжих дорог или скотопогонных трасс. Животноводческие фермы расположены на расстоянии не менее 500 м от жилых и хозяйственных построек. Животные содержатся в типовых коровниках на 100 голов, построенных из кирпича, имеющих искусственное освещение, центральное отопление, смешанную приточно-вытяжную вентиляцию. Все помещения соответствуют зоогигиеническим требованиям.

Поение коров осуществляется водой из артезианской скважины посредством индивидуальных чашечных поилок. Корма для животных хранят в специально оборудованном хранилище, исключающем доступ птиц

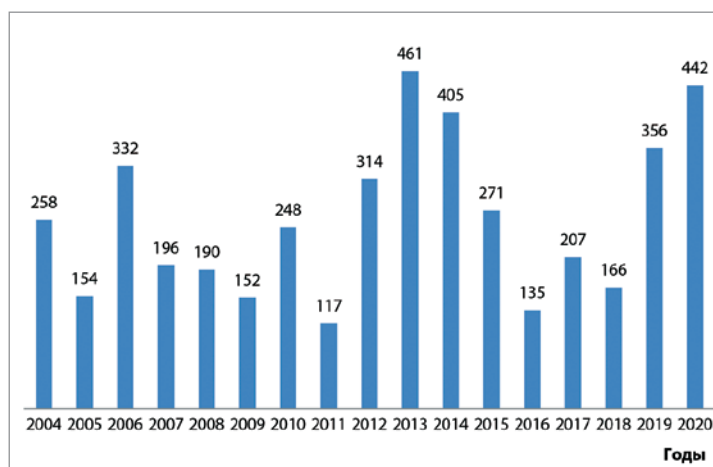


Рис. 1. Количество неблагополучных по лейкозу крупного рогатого скота пунктов на территории РФ в 2004–2020 гг. [6]

Fig. 1. Number of bovine leukosis-affected sites in the Russian Federation, in 2004–2020 [6]

и грызунов, силос – в герметичной силосной траншее. Периодически проводят исследования кормов на бактериальную обсемененность, наличие микотоксинов и тяжелых металлов.

Кормокухня, изолятор, ветеринарная аптека содержатся в надлежащем санитарно-гигиеническом состоянии.

Навоз из коровников за пределы здания удаляют 2 раза в день скребковым транспортером, затем автотранспортом доставляют в навозохранилище, расположенное в 600 м от территории хозяйства, для последующего биотермического обезвреживания. Трупы животных и отходы убоя утилизируют путем захоронения в скотомогильнике п. Оринск или сжигают в траншее.

Для дезинфекции в хозяйстве применяют формальдегид, каустическую соду, хлорамин и хлорную известь. Дезинфицирующие средства хранят в необходимом количестве на складе аптеки в герметичной заводской таре с этикетками. Учет расхода средств ведут в специальном журнале. Для дезинфекции животноводческих помещений используют установку дезинфекционную прицепную (УДП) и аэрозольную насадку САГ-1. В коровниках профилактическую дезинфекцию проводят после начала пастбищного сезона и перед началом стойлового периода. В родильном отделении дезинфекцию осуществляют по мере освобождения родильных боксов. Профилактикой для телят обеззараживают после каждого перевода животных в телятник.

Дезинфекцию производственных помещений проводят в 4 этапа:

1. Орошение внутренних поверхностей помещения, вентиляционных шахт горячим 2%-м раствором каустической соды с экспозицией 30 мин.

2. Механическая уборка: удаление остатков кормов, навоза, механических загрязнений путем гидросмыва водой под давлением из установки УДП.

3. Влажная дезинфекция горячим 5%-м раствором едкого натра с экспозицией 1 ч (расход рабочего раствора 1 л/м²).

4. Аэрозольная дезинфекция воздуха помещения 40%-м раствором формальдегида (из расчета 15 мл/м³) с экспозицией 2 ч. Затем помещение проветривают, остатки формальдегида нейтрализуют распылением 20%-го водного раствора аммиака. Стены на высоту 1,5 м, кормушки и перегородки боксов обрабатывают 15%-й свежегашеной хлорной известью. Контроль качества дезинфекции проводят по наличию бактерий группы кишечных палочек в пробах смывов, отправляемых на исследование в ФГБУ «Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория».

Для дезинсекции на фермах проводят обработку мест выплода насекомых 1%-м водным раствором хлорофоса. Перед началом лета кровососущих насекомых (слепней) кожные покровы животных обрабатывают 2%-м раствором хлорофоса. Дератизацию проводят периодически после обнаружения грызунов, чаще в осенне-зимний период с началом миграции их в помещения. Для этих целей используют приманки с фосфидом цинка. Особое внимание уделяют профилактическим мероприятиям: ремонту полов, герметизации дверей и ворот, ликвидации россыпей зерновых кормов и т. д.

Работники фермы обеспечены спецодеждой и средствами индивидуальной защиты в соответствии с нор-

мами. Стирка спецодежды производится в прачечной санпропускника 1 раз в месяц. Предварительно одежду замачивают на 30 мин в 2%-м растворе формальдегида. Сотрудники могут попасть на территорию фермы только через санпропускник, где они снимают личную одежду, принимают душ и надевают специальную. Промышленные и бытовые стоки поступают в канализационную систему поселка и проходят через очистные сооружения. С работниками фермы ежемесячно проводится просветительная работа в виде лекций на ветеринарно-санитарные темы.

Поголовье дойного стада комплектуется за счет собственного ремонтного молодняка. Коров, пришедших в охоту, осеменяют искусственно маночервикальным способом с соблюдением ветеринарно-санитарных правил (наружные половые органы обмывают раствором фурацилина 1:5000, используют одноразовые пипетки и перчатки). Для осеменения коров и нетелей используют сперму быков-производителей ОАО «Иркутскосплем».

До 2014 г. в ООО «Сибирская Нива» случаев заболевания КРС лейкозом не регистрировалось. Это объясняется прежде всего тем, что плановую серологическую диагностику лейкоза с использованием реакции иммунодиффузии в геле агара (РИД) в Иркутской области начали проводить с 2014 г. Можно предположить, что до этого времени отдельные животные, больные лейкозом, выбраковывались по причине снижения упитанности и продуктивности. Вероятно, инфекция была занесена в хозяйство в 2014 г., когда осуществлялся завоз помесных телок. Первостепенное значение в распространении заболевания имеет передача ВЛКРС здоровым восприимчивым животным при проведении массовых ветеринарно-зоотехнических мероприятий: взятие крови, вакцинация, лечебные манипуляции и т. д.

В 2015 г. после проведения серологического исследования проб сывороток крови всего поголовья стада [9] было выявлено, что уровень инфицированности ВЛКРС коров и телок составил 32,1 и 13,9% (в среднем 19,5%) соответственно (рис. 2, 3, табл. 1). После чего хозяйство было объявлено неблагополучным по лейкозу КРС.

Для ликвидации заболевания сотрудниками Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СФНЦА РАН совместно со специалистами зооветеринарной службы ООО «Сибирская Нива» был разработан план оздоровительно-профилактических мероприятий.

Ветеринарные мероприятия:

1. По результатам серологических исследований сывороток крови животных провести разделение дойного стада на инфицированных ВЛКРС и здоровых.

2. Коров, инфицированных ВЛКРС, разместить изолированно в одном из дворов и исследовать на лейкоз 2 раза в год гематологическим методом. Серологические исследования сывороток крови животных этой группы не проводить [4, 9].

3. Больных животных необходимо выбраковывать, сдавать на мясокомбинат или проводить вынужденный убой в условиях хозяйства.

4. Телят, полученных от больных коров, выращивать изолированно, выпаивая им в течение 10 дней молозиво коров-матерей, а в последующем – молоко от животных здоровых гуртов, сборное пастеризованное молоко или растворенный заменитель цельного молока [9].

5. Серологическое исследование проб сывороток крови здоровых коров проводить ежеквартально. Положительно реагирующих животных переводить в группу инфицированных [2, 10].

6. Комплектование основного дойного стада производить за счет серонегативных нетелей [11, 12].

7. Проводить серологическое исследование проб сыворотки крови молодняка КРС в возрасте 6, 12, 18 месяцев и перед вводом в основное стадо. Положительно реагирующих животных переводить в группу откорма с последующим убоем на мясо. Также возможно проведение иммуностимулирующей терапии данным особям с сочетанным применением иммуномодуляторов [13, 14].

Ветеринарно-зоотехнические мероприятия:

1. Обеспечить четкую нумерацию КРС всех половозрастных групп.

2. Запретить использование нестерильных инструментов и других материалов при обработке животных.

3. Не допускать контакта инфицированных и интактных животных.

4. Любые перегруппировки животных в пределах хозяйства осуществлять только с разрешения главного ветеринарного врача.

5. Осуществлять выбраковку РИД-положительных животных.

Организационно-хозяйственные мероприятия:

1. Своевременно выделять сотрудников для фиксации животных при массовом заборе крови с целью исследования на лейкоз, а также предоставлять автотранспорт для перевозки животных на мясокомбинат.

2. Предусмотреть меры материального поощрения основных исполнителей, участвующих в проведении оздоровительных мероприятий в хозяйстве.

3. Рассматривать ежеквартальные отчеты специалистов животноводства о ходе реализации плана мероприятий по оздоровлению хозяйства от лейкоза.

4. Ежегодно проводить корректировку плана мероприятий на основе проведенного анализа результатов работы.

Применение такого развернутого подхода [5, 15, 16] при выполнении плана оздоровительно-профилактических мероприятий в 2015–2021 гг. позволило добиться стабильного снижения уровня инфицированности животных ВЛКРС (рис. 2, 3, табл.).

Гематологическому исследованию подвергали животных дойного стада, в сыворотке крови которых серологическим методом были обнаружены специфические к ВЛКРС антитела. Это позволило выявлять коров с гематологической стадией лейкоза, в результате чего их количество с течением времени в стаде уменьшалось [5, 6, 11–14, 17].

Установления принадлежности ВЛКРС к определенному генотипу не проводили, чтобы обеспечить экономическую выгоду для хозяйства. Известно, что возбудитель лейкоза имеет 10 генетических групп и несколько подгрупп. Изоляты ВЛКРС, выделенные на территории Российской Федерации, относятся к 4, 7 и 8-й генетическим группам [5, 18, 19]. В Иркутской области в популяции крупного рогатого скота циркулирует вирус лейкоза, принадлежащий к бельгийской и австралийской подгруппам.

Телята, полученные от инфицированных и больных коров, были здоровы, их выпаивали молоком только от здоровых животных, поскольку ВЛКРС может передаваться через молозиво или молоко [5, 16, 19, 20].

За период с 2015 по 2019 г. инфицированность среди коров и телок снизилась в 6,42 и 2,78 раза соответственно. При этом общий уровень инфицированности животных уменьшился на 9,9%.

На рисунке 4 представлены данные о распространении вируса лейкоза в разных половозрастных группах животных в 2019 г. Наибольший процент зараженных особей выявлен среди коров и телок.

В 2020 г. при исследовании в РИД проб сывороток крови поголовья стада специфических преципитирующих антител к антигенам ВЛКРС не выявлено.

Таким образом, благодаря целенаправленной работе, проводимой государственной ветеринарной службой, с 2015 по 2019 г. уровень инфицированности стада ВЛКРС снизился до 9,6%, а с 2020 г. зараженных животных в хозяйстве не выявляли. Показатели летальности

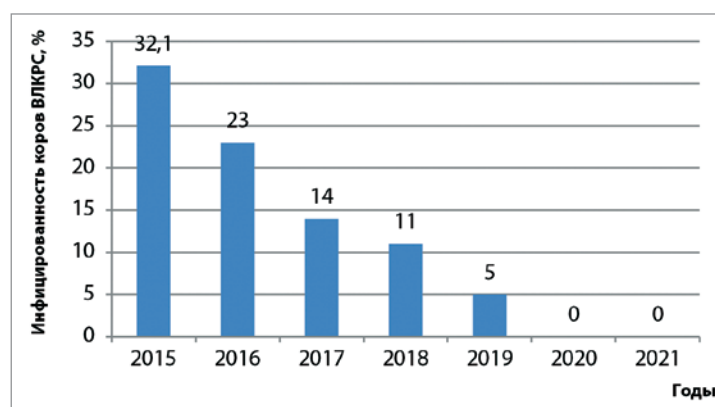


Рис. 2. Динамика изменений уровня инфицированности коров ВЛКРС в 2015–2021 гг.

Fig. 2. Dynamic changes in the number of BLV infected cows, 2015–2021

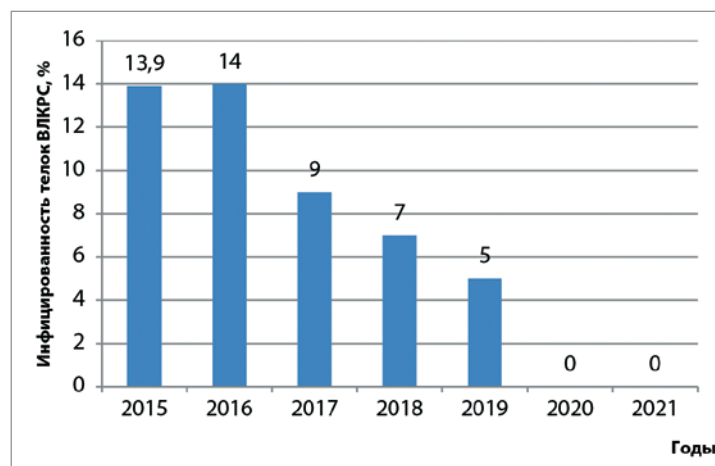


Рис. 3. Динамика изменения инфицированности телок ВЛКРС в 2015–2021 гг.

Fig. 3. Dynamic changes in the number of BLV infected heifers, 2015–2021

Таблица

Изменение общего уровня инфицированности поголовья за 2015–2021 гг.

Table

Changes in the overall number of the infected livestock, 2015–2021

Год	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
Уровень инфицированности, %	19,5	19,1	11,5	11,0	9,6	–	–

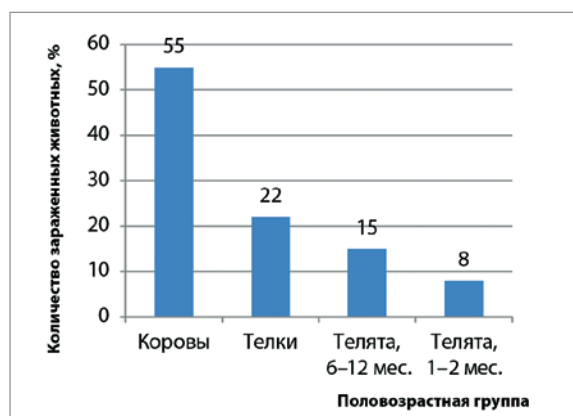


Рис. 4. Оценка количества зараженных ВЛКРС животных в 2019 г.

Fig. 4. Assessing the number of BLV-infected animals in 2019

и смертности не учитывались, так как заболевание носило хронический характер и случаев гибели не регистрировали. Животных выбраковывали в начале развития клинической картины болезни и при установлении изменений в лейкоформуле крови. По состоянию на 1 октября 2020 г. в ООО «Сибирская Нива» болезнь полностью искоренили.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании положительных результатов серологических и гематологических исследований поголовья животных ООО «Сибирская Нива» был поставлен диагноз «лейкоз крупного рогатого скота». Эпизоотия в хозяйстве началась в 2015 г., источником ВЛКРС, предположительно, явились ввезенные помесные животные.

С целью ликвидации заболевания был разработан план оздоровительно-профилактических мероприятий: ветеринарных, зоотехнических и организационно-хозяйственных.

Выполнение мероприятий по профилактике и ликвидации лейкоза крупного рогатого скота с применением спланированного комплексного подхода, учитывающего особенности данного хозяйства, и своевременной диагностики позволили оздоровить стадо от данного заболевания.

Исследования проводились до выхода приказа Министрства сельского хозяйства РФ от 24 марта 2021 г. № 156 «Об утверждении Ветеринарных правил осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидации очагов лейкоза крупного рогатого скота».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Агасиев А. Ш., Козловская А. Ю., Дмитриева О. С., Половинцева Т. М. Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота Псковской области. *Эффективное животноводство*. 2021; 2 (168): 106–109. Режим доступа: <https://www.agroyug.ru/magazine/pdf-mailing/ehffektivnoe-zhivotnovodstvo-2-168-mart-2021.pdf>.
- Абакин С. С., Криворучко С. В. Новые подходы в диагностике и оздоровлении стад от вирусов лейкоза и иммунодефицита крупного рогатого скота. *Ветеринарная патология*. 2013; 1 (43): 36–39. Режим доступа: <https://vetpat.ru/wp-content/uploads/2014/03/01-43-2013.pdf>.
- Гулюкин М. И., Иванова Л. А., Козырева Н. Г., Степанова Т. В. Анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого

скота в Российской Федерации за 2014 год. *Реализация достижений ветеринарной науки для обеспечения ветеринарно-санитарного и эпизоотического благополучия животноводства Брянской области в современных условиях: материалы научно-производственной конференции (19–20 июня 2015 г.)*. Брянск: Брянский ГАУ; 2015; 78–89. eLIBRARY ID: 23583271.

4. Переходко И. Н. Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в хозяйствах Жуковского района. *Научные проблемы производства животноводства и улучшения ее качества: материалы XXX научно-практической конференции студентов и аспирантов (20–21 мая 2014 г.)*. Брянск: Брянский ГАУ; 2014; 39–42. eLIBRARY ID: 23577767.

5. Petropavlovskiy M., Donnik I., Bezborodova N. Epizootiological and genetic characterization of the bovine leukemia virus in the Russian Federation – evaluation of bovine leukemia virus in Russia. *Veterinarski Arhiv*. 2019; 89 (6): 785–798. DOI: 10.24099/vet.arhiv.0555.

6. Россельхознадзор. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации, 2020 г. Режим доступа: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2020/iac2020_all.pdf.

7. Батомункуев А. С. Лейкоз крупного рогатого скота в Иркутской области. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2019; 3: 9–13. DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.201903002.

8. Власенко В. С., Бажин М. А. Оценка иммунного статуса крупного рогатого скота при лейкозе. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2009; 9 (201): 64–69. eLIBRARY ID: 12869589.

9. Меграбян Д. С. Методы прижизненной диагностики при лейкозе крупного рогатого скота. *Ветеринария и кормление*. 2009; 6-1: 16–17.

10. Новосельцев Г. Г., Карабакян В. А., Симонян Г. А., Репникова Н. В. Эффективный и безущербный метод борьбы с лейкозом крупного рогатого скота. *Ветеринария Кубани*. 2011; 1: 6–8. eLIBRARY ID: 16543371.

11. Пономарева И. С., Сычева М. В., Поляков М. А., Нургулиева Р. М., Карташова О. Л. Эффективность диагностики лейкозов крупного рогатого скота методами РИД, ИФА и ПЦР в хозяйствах Оренбургской области. *Современные наукоемкие технологии*. 2010; 9: 134. eLIBRARY ID: 15485848.

12. Тимошина С. В., Бадеева О. Б. Успешная борьба с лейкозом крупного рогатого скота в Вологодской области. *Ветеринария и кормление*. 2012; 4: 6–8. eLIBRARY ID: 20356961.

13. Смирнов Ю. П., Еремин С. П. Напряженность эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в зависимости от количества заготовленных кормов. *Вестник Нижегородской государственной сельскохозяйственной академии*. 2012; 2: 246–250. eLIBRARY ID: 22574705.

14. Смирнов Ю. П., Суворова И. Л. Способ профилактики постнатального заражения вирусом лейкоза крупного рогатого скота молодняка крупного рогатого скота. Патент № 2621146 Российская Федерация, МПК А61К 31/00 (2006.01), А61К 31/7105 (2006.01), А61К 36/15 (2006.01), А61К 38/00 (2006.01), А61К 38/20 (2006.01), А61П 35/02 (2006.01). ФГБНУ «Научно-исследовательский ветеринарный институт Нечерноземной зоны Российской Федерации». № 2016138056. Заявл. 23.09.2016. Опубл. 31.05.2017. Бюл. № 16.

15. Hirsch C., Camargos M. F., Barbosa-Stancioli E. F., Fonseca Júnior A. A., Rajão D. S., Heinemann M. B., et al. Genetic variability and phylogeny of the 5' long terminal repeat from Brazilian bovine leukemia virus. *Genet. Mol. Res.* 2015; 14 (4): 14530–14538. DOI: 10.4238/2015.

16. Meas S., Usui T., Ohashi K., Sugimoto C., Onuma M. Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Vet. Microbiol.* 2002; 84 (3): 275–82. DOI: 10.1016/S0378-1135(01)00458-8.

17. Ali A. F., Selim A., Manaa E. A., Abdelrahman A., Sakr A. Oxidative state markers and clinicopathological findings associated with bovine leukemia virus infection in cattle. *Microb. Pathog.* 2019; 136:103662. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103662.

18. Licursi M., Inoshima Y., Wu D., Yokoyama T., González E. T., Sentsui H. Genetic heterogeneity among bovine leukemia virus genotypes and its relation to humoral responses in hosts. *Virus Res.* 2002; 86 (1–2): 101–110. DOI: 10.1016/S0168-1702(02)00059-X.

19. Zyryanova I. M., Kovalchuk S. N. Bovine leukemia virus pre-miRNA genes' polymorphism. *RNA Biol.* 2018; 15 (12): 1440–1447. DOI: 10.1080/15476286.2018.1555406.

20. Rahman M. M., Takashima S., Kamatari Y. O., Badr Y., Kitamura Y., Shimizu K., et al. Proteomic profiling of milk small extracellular vesicles from bovine leukemia virus-infected cattle. *Sci. Rep.* 2021; 11 (1):2951. DOI: 10.1038/s41598-021-82598-2.

REFERENCES

- Agasiev A. Sh., Kozlovskaya A. Yu., Dmitrieva O. S., Polovintseva T. M. Epizooticheskaya situatsiya po leikozu krupnogo rogatogo skota Pskovskoi oblasti = Epizootic situation on bovine leukosis in the Pskov Oblast.

Effektivnoe zhiivotnovodstvo. 2021; 2 (168): 106–109. Available at: <https://www.agroyug.ru/magazine/pdf-mailing/ehffektivnoe-zhiivotnovodstvo-2-168-mart-2021.pdf>. (in Russ.)

2. Abakin S. S., Krivoruchko S. V. New approaches to the diagnosis and sanitation of berds from leukemia and immunodeficiency virus in cattle. *Veterinarnaya patologiya*. 2013; 1 (43): 36–39. Available at: <https://vetpat.ru/wp-content/uploads/2014/03/01-43-2013.pdf>. (in Russ.)

3. Gulyukin M. I., Ivanova L. A., Kozyreva N. G., Stepanova T. V. Analiz epizooticheskoi situatsii po leikozu krupnogo rogatogo skota v Rossiiskoi Federatsii za 2014 god = Analysis of the epizootic situation on bovine leukosis in the Russian Federation in 2014. *Realizatsiya dostizhenii veterinarnoi nauki dlya obespecheniya veterinarno-sanitarnogo i epizooticheskogo blagopoluchiya zhiivotnovodstva Bryanskoi oblasti v sovremennykh usloviyakh: materialy nauchno-proizvodstvennoi konferentsii (19–20 iyunya 2015 g.) = Implementation of veterinary science achievements to ensure veterinary-sanitary and epizootic safety of livestock industry in the Bryansk Oblast under the modern conditions: proceedings of the research and development conference (June 19–20, 2015)*. Bryansk: Bryansk SAU; 2015; 78–89. eLIBRARY ID: 23583271. (in Russ.)

4. Perekhod'ko I. N. Epizooticheskaya situatsiya po leikozu krupnogo rogatogo skota v khozyaistvakh Zhukovskogo raiona = Epizootic situation on bovine leukosis on the farms of the Zhukovsky District. *Nauchnye problemy proizvodstva produktsii zhiivotnovodstva i uluchsheniya ee kachestva: materialy XXX nauchno-prakticheskoi konferentsii studentov i aspirantov (20–21 maya 2014 g.) = Scientific problems of livestock production and improvement of its quality: materials of the XXX Scientific and practical conference of students and postgraduates (May 20–21, 2014)*. Bryansk: Bryansk SAU; 2014; 39–42. eLIBRARY ID: 23577767. (in Russ.)

5. Petropavlovskiy M., Donnik I., Bezborodova N. Epizootiological and genetic characterization of the bovine leukemia virus in the Russian Federation – evaluation of bovine leukemia virus in Russia. *Veterinarski Arhiv*. 2019; 89 (6): 785–798. DOI: 10.24099/vet.arhiv.0555.

6. Rosselkhoz nadzor. Epizootic situation in the Russian Federation, 2020. Available at: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/rf/2020/iac2020_all.pdf. (in Russ.)

7. Batomunkuev A. S. The leukemia of cattle in the Irkutsk region. *Veterinary, Animal Science and Biotechnology*. 2019; 3: 9–13. DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.201903002. (in Russ.)

8. Vlasenko V. S., Bazhin M. A. Evaluating the immune status of cattle at leukosis. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2009; 9 (201): 64–69. eLIBRARY ID: 12869589. (in Russ.)

9. Megrabyan D. S. Metody prizhiznennoi diagnostiki pri leikozu krupnogo rogatogo skota = Methods of lifetime BL diagnosis. *Veterinariya i kormlenie*. 2009; 6-1: 16–17. (in Russ.)

10. Novoselcev G. G., Karabakyan V. A., Simonyan G. A., Repnikova N. V. Effective and unharmed method of fighting against leucosis of large horned cattle. *Veterinaria Kubani*. 2011; 1: 6–8. eLIBRARY ID: 16543371. (in Russ.)

11. Ponomareva I. S., Sycheva M. V., Poljakov M. A., Nurgalieva R. M., Kartashova O. L. Jefferektivnost' diagnostiki lejkovov krupnogo rogatogo skota

metodami RID, IFA i PCR v hozjajstvakh Orenburgskoj oblasti = Effectiveness of BL diagnosis using ID, ELISA and PCR methods on farms of the Orenburg Oblast. *Modern High Technologies*. 2010; 9: 134. eLIBRARY ID: 15485848. (in Russ.)

12. Timoshina S. V., Badeeva O. B. Advanced system action on fight with bovine leukosis. *Veterinaria i kormlenie*. 2012; 4: 6–8. eLIBRARY ID: 20356961. (in Russ.)

13. Smirnov Ju. P., Eremin S. P. Naprjazhennost' jepizooticheskoi situatsii po leikozu krupnogo rogatogo skota v zavisimosti ot kolichestva zagotovlennykh kormov = Tension of epizootic situation on bovine leukosis, depending on the amount of harvested feeds. *Vestnik Nizhegorodskoi gosudarstvennoi sel'skokhozyaistvennoi akademii*. 2012; 2: 246–250. eLIBRARY ID: 22574705. (in Russ.)

14. Smirnov Yu. P., Suvorova I. L. Prevention method of postnatal infection by bovine leukosis virus of the young bovine stock. Patent No. 2621146 Russian Federation, Int. A61K 31/00 (2006.01), A61K 31/7105 (2006.01), A61K 36/15 (2006.01), A61K 38/00 (2006.01), A61K 38/20 (2006.01), A61P 35/02 (2006.01). Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethnoe nauchnoe uchrezhdenie "Nauchno-issledovatel'skij veterinarnyj institut Nechernozemnoj zony Rossijskoj Federatsii". No. 2016138056. Date of filing: 23.09.2016. Date of publication: 31.05.2017. Bull. No. 16. (in Russ.)

15. Hirsch C., Camargos M. F., Barbosa-Stanciolli E. F., Fonseca Júnior A. A., Rajão D. S., Heinemann M. B., et al. Genetic variability and phylogeny of the 5' long terminal repeat from Brazilian bovine leukemia virus. *Genet. Mol. Res.* 2015; 14 (4): 14530–14538. DOI: 10.4238/2015.

16. Meas S., Usui T., Ohashi K., Sugimoto C., Onuma M. Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Vet. Microbiol.* 2002; 84 (3): 275–82. DOI: 10.1016/S0378-1135(01)00458-8.

17. Ali A. F., Selim A., Manaa E. A., Abdelrahman A., Sakr A. Oxidative state markers and clinicopathological findings associated with bovine leukemia virus infection in cattle. *Microb. Pathog.* 2019; 136:103662. DOI: 10.1016/j.micpath.2019.103662.

18. Liscursi M., Inoshima Y., Wu D., Yokoyama T., González E. T., Sentsui H. Genetic heterogeneity among bovine leukemia virus genotypes and its relation to humoral responses in hosts. *Virus Res.* 2002; 86 (1–2): 101–110. DOI: 10.1016/S0168-1702(02)00059-X.

19. Zyrianova I. M., Koval'chuk S. N. Bovine leukemia virus pre-miRNA genes' polymorphism. *RNA Biol.* 2018; 15 (12): 1440–1447. DOI: 10.1080/15476286.2018.1555406.

20. Rahman M. M., Takashima S., Kamatari Y. O., Badr Y., Kitamura Y., Shimizu K., et al. Proteomic profiling of milk small extracellular vesicles from bovine leukemia virus-infected cattle. *Sci. Rep.* 2021; 11 (1):2951. DOI: 10.1038/s41598-021-82598-2.

Поступила в редакцию / Received 15.03.2022

Поступила после рецензирования / Revised 11.04.2022

Принята к публикации / Accepted 17.05.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ягудин Александр Ринатович, врач-ординатор кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ, г. Красноярск, Россия.

Счисленко Светлана Анатольевна, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ, г. Красноярск, Россия.

Усова Ирина Анатольевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры внутренних незаразных болезней, акушерства и физиологии сельскохозяйственных животных ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ, г. Красноярск, Россия.

Строганова Ирина Яковлевна, доктор биологических наук, профессор кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ, г. Красноярск, Россия.

Alexander R. Yagudin, Medical Resident, Department of Epizootology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise, FSBEI HE KrasSAU, Krasnoyarsk, Russia.

Svetlana A. Schislenko, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Department of Epizootology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise, FSBEI HE KrasSAU, Krasnoyarsk, Russia.

Irina Anatolyevna Usova, Candidate of Science (Biology), Associate Professor, Department of Internal Non-Contagious Diseases, Obstetrics and Physiology of Farm Animals, FSBEI HE KrasSAU, Krasnoyarsk, Russia.

Irina Ya. Stroganova, Doctor of Science (Biology), Professor, Department of Epizootology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise, FSBEI HE KrasSAU, Krasnoyarsk, Russia.



Определение критериев для исследования флокулирующих свойств полисепта (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида)

М. Н. Гусева¹, М. И. Доронин², М. А. Шевченко³, Д. В. Михалишин⁴, Ы. М. Гочмурадов⁵, В. В. Михалишин⁶, Ю. С. Елькина⁷

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-3997-3390>, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4682-6559>, e-mail: doronin@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5436-0042>, e-mail: shevchenko_ma@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-2508-8411>, e-mail: gochmuradov@arriah.ru

⁶ AuthorID: 768290, Scopus Author ID: 14027142200, e-mail: mihalishin@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, e-mail: elkina_ys@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

При производстве вакцин важную роль играет очистка вирусной суспензии от балластных белков и жиров, высокая концентрация которых вызывает угнетение организма животных или аллергические реакции. На протяжении длительного времени для этих целей применяли полигуанидин и его производные. В настоящее время на рынке предлагают катионный полиэлектролит полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, обладающий уникальным сочетанием физико-химических и биоцидных свойств, которые позволяют использовать его практически во всех сферах народного хозяйства. Партии полисепта (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида) отличаются друг от друга по флокулирующим свойствам, поэтому возникла необходимость разработать тест-систему для определения качества поступающей продукции, существенно влияющего на потерю антигена вируса при производстве вакцин. Были изучены как флокулирующие свойства, так и потеря иммуногенных компонентов вируса ящура из вирусосодержащей суспензии, а также осмоляльность растворов разной процентной концентрации семи серий полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Установлены критерии пригодности поступающей продукции для производства противоящурных вакцин: проверка в динамике флокулирующих качеств партий полимера при разных его концентрациях (0,007; 0,0105; 0,01575%) на протяжении 24 ч. Через указанное время мутность раствора должна быть не более 30 FNU (формазиновая степень мутности) при концентрациях 0,0105 и 0,01575%. Также необходимо определять осмоляльность растворов полисепта разной процентной концентрации (6, 8, 10, 12, 14%). Значение осмоляльности должно укладываться в следующие границы: 6%-й раствор – 260 ± 20 mOsm; 8%-й – 330 ± 25 mOsm; 10%-й – 400 ± 25 mOsm; 12%-й – 460 ± 30 mOsm; 14%-й – 520 ± 20 mOsm.

Ключевые слова: полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, антиген вируса ящура, иммуногенные компоненты, флокуляция, мутность, осмоляльность

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

Для цитирования: Гусева М. Н., Доронин М. И., Шевченко М. А., Михалишин Д. В., Гочмурадов Ы. М., Михалишин В. В., Елькина Ю. С. Определение критериев для исследования флокулирующих свойств полисепта (полигексаметиленгуанидин гидрохлорида). *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 254–261. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-254-261.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Гусева Марина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: guseva_mn@arriah.ru.

Determination of indicators for tests of polysept (polyhexamethylene guanidine hydrochloride) for flocculation properties

M. N. Guseva¹, M. I. Doronin², M. A. Shevchenko³, D. V. Mikhilishin⁴, Y. M. Gochmuradov⁵, V. V. Mikhilishin⁶, Yu. S. El'kina⁷

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

¹ <https://orcid.org/0000-0002-3997-3390>, e-mail: guseva_mn@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4682-6559>, e-mail: doronin@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5436-0042>, e-mail: shevchenko_ma@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, e-mail: mihalishindv@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-2508-8411>, e-mail: gochmuradov@arriah.ru

© Гусева М. Н., Доронин М. И., Шевченко М. А., Михалишин Д. В., Гочмурадов Ы. М., Михалишин В. В., Елькина Ю. С., 2022

⁶ AuthorID: 768290, Scopus Author ID: 14027142200, e-mail: mihalishin@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, e-mail: elkina_ys@arriah.ru

SUMMARY

In vaccine production, it is particularly important to purify the virus-containing suspension in order to remove ballast proteins and fats, which, when present in high concentrations, are responsible for depression or allergic reactions in animals. Polyguanidine and its derivatives have long been used for such purposes. At present, the market offers polyhexamethylene guanidine hydrochloride, a cationic polyelectrolyte with a unique combination of physico-chemical and biocidal properties allowing for it to be used in nearly all spheres of economy. Flocculation properties of polysept (polyhexamethylene guanidine hydrochloride) vary from batch to batch, and this has necessitated the development of a test system for determination of the incoming material quality, which has a significant impact on virus antigen concentration during vaccine production. Seven batches of polyhexamethylene guanidine were tested for flocculation properties, changes in FMDV immunogenic component concentration in the virus-containing suspension, osmolality of solutions at different percentage concentrations. Indicators of incoming material suitability for FMD vaccine production were determined. The batches of polysept should be tested for flocculation properties at different concentrations of the polymer (0.007, 0.0105 and 0.01575%) in dynamics during 24 hours. After this period, the turbidity of solutions should not exceed 30 FNU (formazin turbidity) at concentrations of 0.0105 and 0.01575%. It is also necessary to determine the osmolality of polysept solutions at different percentage concentrations (6, 8, 10, 12, 14%). Osmolality values should be within the following ranges: 260 ± 20 mOsm for a 6% solution; 330 ± 25 mOsm for an 8% solution; 400 ± 25 mOsm for a 10% solution; 460 ± 30 mOsm for a 12% solution; 520 ± 20 mOsm for a 14% solution.

Keywords: polyhexamethylene guanidine hydrochloride, foot-and-mouth disease virus antigen, immunogenic components, flocculation, turbidity, osmolality

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

For citation: Guseva M. N., Doronin M. I., Shevchenko M. A., Mikhilishin D. V., Gochmuradov Y. M., Mikhilishin V. V., El'kina Yu. S. Determination of indicators for tests of polysept (polyhexamethylene guanidine hydrochloride) for flocculation properties. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 254–261. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-254-261.

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

For correspondence: Marina N. Guseva, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: guseva_mn@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

При производстве вакцин важную роль играет очистка вирусной суспензии. На протяжении длительного времени для этих целей применяли полигуанидин и его производные. В настоящее время на рынке предлагают полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГ-гидрохлорид) – катионный полиэлектролит, обладающий уникальным сочетанием физико-химических и биоцидных свойств, которые позволяют использовать его практически во всех сферах народного хозяйства [1–8].

Полигексаметиленгуанидин гидрохлорид представляет собой водорастворимый хлорсодержащий полимер с молекулярной массой 10 000 Да с формулой $[-NH-C(=NH_2)NH-(CH_2)_6]_n$, в котором хлор находится в виде комплексной соли хлористого водорода с сильным основным азотом соединения. Препарат с эмпирической формулой $(C_7H_{16}N_3Cl)_n$, выпускаемый промышленностью под торговой маркой «Полисепт» (ООО «Фарма-Покров», Россия), представляет собой водорастворимый полимерный продукт, который благодаря качествам катионного электролита в сочетании с полимерностью, а также наличию полярной гуанидиновой и неполярной гексаметиленовой группировкам, придающим адгезивные и поверхностно-активные свойства, имеет широкий спектр применения в народном хозяйстве. ПГМГ-гидрохлорид обладает высокой бактерицидной и фунгицидной активностью. Растворы препарата в 0,05%-й концентрации вызывают гибель грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов в течение 5–25 мин. Продукт является абсолют-

но безопасным для здоровья людей и животных и экологически безвредным для окружающей среды [8–10].

Физико-химические свойства ПГМГ-гидрохлорида: не имеет цвета и запаха (некоторые не очень качественные образцы продукта имеют запах аммиака), пожаробезопасен, взрывобезопасен, полностью растворим в воде, растворим в спирте, не теряет своих свойств при отрицательных температурах, не разлагается, сохраняет свои физико-химические и биоцидные свойства при нагревании до 120 ± 5 °C. Срок годности 20%-го водного раствора – не менее 5 лет, 100%-го концентрата – не менее 7 лет.

Биоцидные свойства ПГМГ-гидрохлорида: относится к биоцидам широкого спектра антимикробной активности в отношении грамотрицательных и грамположительных бактерий (включая микобактерии туберкулеза, легионеллеза), вирусов (в том числе вирусов энтеральных и парентеральных гепатитов, иммунодефицита человека, полиомиелита, гриппа, герпеса и др.), грибов, в том числе плесневых, дрожжевых и дрожжеподобных, грибов рода *Candida*, дерматофитов.

Форма выпуска: в виде кусков (гранул) с содержанием ПГМГ-гидрохлорида от 95–98% или в виде водного раствора с содержанием ПГМГ-гидрохлорида 20%. При необходимости можно получить водные растворы с содержанием действующего вещества до 50% [4].

Получают ПГМГ-гидрохлорид путем взаимодействия гексаметилендиамина с гуанидингидрохлоридом [11, 12].

Отмечена флокулирующая способность полисепта. Его применяют в виде 9%-го раствора в количестве 1,5–2,0 мг сухого вещества на 1 л сточных вод [13].

Таблица 1
Референс-значения формазиновой степени мутности

Table 1
Formazin turbidity reference values

Степень мутности, FNU				
< 0,10	0,1–15	16–100	101–750	> 750
сверхнизкая	низкая	средняя	высокая	сверхвысокая

В производстве инактивированных противоящурных вакцин полисепт добавляют в виде 5 или 10%-го водного раствора до конечной концентрации 0,005–0,03% (рН 7,6–8,0). Флокулированные балластные белки отделяют центрифугированием, сепарированием или отстаем. Увеличение концентрации ПГМГ-гидрохлорида в суспензии выше 0,03% приводит к значительным потерям вируса, наблюдается снижение титра инфекционной активности и количества 146S компонента вируса ящура [10, 14].

К сожалению, иногда партии полисепта отличаются друг от друга флокулирующими и другими свойствами, что приводит к потерям вирусного белка при производстве вакцин, поэтому разработка тест-системы для определения флокулирующих свойств партий ПГМГ-гидрохлорида является актуальной задачей.

Цель исследования – подобрать тест-систему для определения флокулирующих свойств полисепта (ПГМГ-гидрохлорида).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клеточная линия. В работе использовали суспензионную перевиваемую культуру клеток из почки новорожденного сирийского хомячка ВНК-21/SUSP/ARRIAN [15]. Клетки выращивали согласно «Промышленному регламенту на производство вакцины против ящура различных типов» в культиваторах металлических с рабочим объемом до 1800 дм³.

ПГМГ-гидрохлорид получен из ООО «Фарма-Покров» (Россия), ТУ 9392-001-32963622-99, партии: № 343 от 09.07.2020; № 522 от 20.11.2020; № 48 от 21.02.2021; № 57 от 26.02.2021; № 71 от 26.03.2021; № 219 от 27.08.2019; № 168 от 27.08.2021.

Для работы с использованием деминерализованной воды в эмалированной таре готовили 10 и 20%-й растворы, нагревая до 90–100 °С при постоянном помешивании до полного растворения полимера. Полученную смесь охлаждали при температуре 18–25 °С, затем помещали в холодильную камеру (4–8 °С).

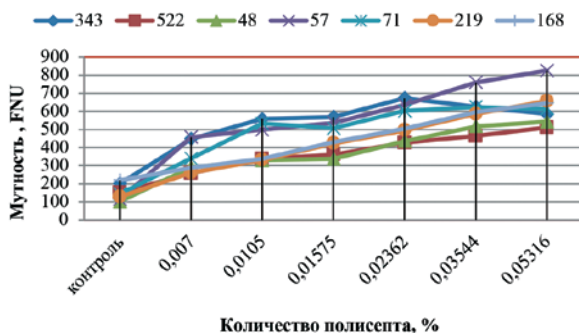


Рис. 1. Динамика изменения мутности в нулевой пробе при добавлении разного количества полисепта

Fig. 1. Turbidity dynamics in the zero-hour sample at different polysept concentrations

Мутность готового раствора ПГМГ-гидрохлорида измеряли на портативном турбидиметре с ИК-диодом HI 98713 (Hanna Instruments, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Значения мутности выражали в FNU (формазиновая единица мутности).

В таблице 1 приводятся значения разной степени мутности [16].

Определение осмоляльности испытуемых растворов разной концентрации (6, 8, 10, 12, 14%) проводили с помощью осмометра криоскопического медицинского ОСКР-1М (Россия).

Измерение концентрации общего вирусного белка и компонентов вируса ящура осуществляли согласно «Методическим рекомендациям по определению концентрации 146S, 75S, 12S компонентов вакцинных штаммов культурального вируса ящура в реакции связывания комплемента (РСК)» [17].

Исследование флокулирующих свойств. Испытания проводили следующим образом: во флаконы объемом 0,5 дм³ отбирали инактивированную суспензию вируса ящура по 0,4 дм³, затем вносили 10%-й раствор полисепта до конечных концентраций 0,007; 0,0105; 0,01575; 0,02362; 0,03544; 0,05316% (шаг 1:5). Пробы для измерения мутности отбирали через 0 (нулевая проба), 2, 4, 6, 8 и 24 ч. Концентрации общего вирусного белка и его компонентов определяли через 24 ч после внесения полисепта.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На первых этапах работы исследовали флокулирующую способность различных партий полисепта. Для этого в инактивированную суспензию вируса ящура вносили 10%-й раствор полисепта в различных концентрациях к общему объему. Пробы отбирали через разные промежутки времени. Установлено, что в нулевой пробе с увеличением процента флокулянта происходил рост показателей мутности (рис. 1, табл. 2). В контроле показатели варьировали от $101,5 \pm 19,9$ до $219,3 \pm 10,8$ FNU, а в суспензии с полимером наблюдался рост значений мутности от $258,0 \pm 32,9$ до $826,0 \pm 61,6$ FNU в зависимости от партии полисепта и концентрации вещества (различия существенны, $p < 0,005$).

В литературе отмечается, что адсорбция флокулянта на частицах дисперсной фазы может происходить за счет электростатических, химических взаимодействий, ионного обмена, сил Ван-дер-Ваальса. Эффективность процесса флокуляции, размер и плотность образующихся хлопьев во многом зависят от интенсивности и продолжительности перемешивания и от количества флокулянта. Добавление небольшого количества флокулянтов резко увеличивает прочность хлопьев.

Образование агрегатов частиц, т. е. связывание частиц полимерными мостиками, происходит в результате взаимодействия макромолекул, адсорбированных на частицах дисперсной фазы, со свободными частицами. Адсорбция ионогенных флокулянтов на частицах дисперсной фазы, имеющих противоположный по знаку заряд, происходит главным образом за счет электростатического притяжения. Максимальная скорость флокуляции наблюдается при одинаковой

Таблица 2
Динамика изменения мутности при внесении разного количества полимера ($n = 3$)

Table 2
Turbidity dynamics at different polymer concentrations ($n = 3$)

№ п/п	Номера партий ПГМГ	Время	Значение мутности (FNU)						
			0,007%	0,0105%	0,01575%	0,02362%	0,03544%	0,05316%	Контроль
1	343	0	448,2 ± 12,0	557,8 ± 41,3	568,8 ± 8,6	672,8 ± 17,7	625,4 ± 34,6	585,4 ± 9,5	200,6 ± 69,5
		2	354,2 ± 9,2	238,8 ± 24,6	109,0 ± 15,0	85,6 ± 11,7	88,7 ± 3,0	69,3 ± 4,7	180,0 ± 60,0
		4	307,6 ± 12,6	117,5 ± 29,5	71,2 ± 11,4	53,3 ± 8,2	59,4 ± 5,7	49,4 ± 3,8	173,6 ± 51,3
		6	304,6 ± 11,2	85,5 ± 10,4	51,2 ± 12,8	38,2 ± 8,8	30,6 ± 8,3	19,0 ± 1,4	169,2 ± 52,7
		8	294,4 ± 14,0	70,0 ± 20,5	35,3 ± 10,6	25,8 ± 3,7	24,9 ± 2,3	19,3 ± 3,1	170,4 ± 51,8
		24	54,4 ± 22,4	47,2 ± 11,3	19,6 ± 3,5	13,1 ± 1,5	15,1 ± 2,3	12,5 ± 3,1	142,8 ± 30,1
2	522	0	258,0 ± 32,9	337,3 ± 38,8	361,0 ± 27,6	426,3 ± 29,5	464,0 ± 26,2	511,3 ± 22,3	150,7 ± 27,0
		2	223,3 ± 25,2	216,7 ± 20,8	340,7 ± 24,0	111,3 ± 3,2	85,7 ± 4,5	74,2 ± 3,3	163,0 ± 37,5
		4	184,7 ± 32,3	243,7 ± 40,5	108,7 ± 9,9	70,4 ± 5,1	58,0 ± 2,4	56,6 ± 3,6	163,7 ± 42,7
		6	183,0 ± 28,2	222,0 ± 23,6	70,7 ± 12,1	47,6 ± 0,4	38,4 ± 1,4	34,7 ± 0,29	160,3 ± 39,0
		8	181,0 ± 27,5	147,3 ± 29,7	68,5 ± 18,7	38,1 ± 1,1	29,3 ± 2,6	23,0 ± 3,0	127,0 ± 26,9
		24	155,0 ± 24,5	99,9 ± 0,2	34,9 ± 4,5	23,4 ± 5,2	18,7 ± 1,8	12,5 ± 1,5	124,3 ± 29,9
3	48	0	290,7 ± 37,4	330,0 ± 35,8	337,7 ± 33,3	435,3 ± 55,5	517,7 ± 58,5	543,7 ± 40,9	101,5 ± 19,9
		2	236,67 ± 16,7	88,6 ± 11,3	90,9 ± 19,1	79,3 ± 34,4	102,9 ± 11,5	85,2 ± 13,9	110,7 ± 10,1
		4	159,7 ± 25,9	62,0 ± 8,3	47,8 ± 14,3	49,4 ± 4,0	47,5 ± 8,0	49,7 ± 9,3	101,3 ± 1,5
		6	74,5 ± 21,1	44,4 ± 8,4	40,4 ± 2,7	30,0 ± 3,7	46,0 ± 13,4	35,4 ± 1,5	104,8 ± 9,9
		8	49,1 ± 16,4	29,1 ± 9,9	26,3 ± 8,0	25,0 ± 1,7	32,3 ± 8,8	30,0 ± 3,0	102,4 ± 5,6
		24	41,3 ± 1,6	19,8 ± 5,8	12,7 ± 2,2	15,9 ± 6,7	17,2 ± 4,4	18,6 ± 10,8	101,0 ± 4,6
4	57	0	457,7 ± 40,2	498,3 ± 34,3	536,7 ± 55,9	634,7 ± 37,2	760,0 ± 23,9	826,0 ± 61,6	114,0 ± 16,6
		2	136,0 ± 7,9	105,8 ± 11,6	99,4 ± 5,5	97,0 ± 15,1	90,3 ± 9,5	90,6 ± 2,5	118,7 ± 3,2
		4	81,0 ± 7,9	66,5 ± 3,3	75,2 ± 13,1	69,3 ± 11,8	79,7 ± 13,8	85,8 ± 2,3	101,7 ± 7,6
		6	59,4 ± 0,6	58,2 ± 3,3	46,8 ± 2,2	47,1 ± 1,8	43,3 ± 2,9	38,3 ± 2,9	110,0 ± 10,0
		8	48,5 ± 2,0	37,0 ± 4,0	30,9 ± 0,9	35,2 ± 4,6	31,3 ± 5,5	31,0 ± 1,7	106,7 ± 5,8
		24	23,3 ± 7,5	21,9 ± 1,9	18,8 ± 1,2	15,8 ± 2,7	18,2 ± 1,7	19,6 ± 2,5	76,2 ± 7,7
5	71	0	339,7 ± 10,0	533,3 ± 41,6	506,3 ± 11,85	602,0 ± 13,1	623,3 ± 25,2	613,3 ± 18,6	144,0 ± 30,4
		2	263,7 ± 23,7	110,3 ± 11,9	79,2 ± 4,6	90,3 ± 3,2	102,2 ± 6,9	126,0 ± 4,6	119,0 ± 14,5
		4	83,7 ± 3,3	65,1 ± 3,2	47,9 ± 4,6	62,6 ± 6,2	59,0 ± 8,1	55,0 ± 8,7	105,7 ± 12,5
		6	84,3 ± 4,0	44,6 ± 5,9	35,4 ± 2,4	44,5 ± 4,0	45,6 ± 13,2	57,8 ± 0,4	123,0 ± 21,1
		8	91,7 ± 7,6	41,8 ± 2,2	29,8 ± 6,9	36,0 ± 4,2	40,0 ± 7,9	45,4 ± 11,3	116,7 ± 14,6
		24	39,6 ± 15,9	19,6 ± 2,1	12,9 ± 1,5	12,9 ± 1,5	14,7 ± 1,3	15,1 ± 3,1	111,7 ± 15,5
6	219	0	260,3 ± 11,7	331,7 ± 17,2	423,3 ± 25,2	495,0 ± 59,1	585,0 ± 43,9	657,3 ± 30,6	128,0 ± 19,2
		2	214,3 ± 16,2	101,9 ± 15,0	81,7 ± 11,7	77,4 ± 9,8	82,2 ± 8,1	96,0 ± 3,0	155,3 ± 34,0
		4	82,7 ± 8,3	66,5 ± 19,2	50,5 ± 8,1	47,6 ± 1,9	57,9 ± 6,4	74,0 ± 4,9	114,6 ± 21,6
		6	124,7 ± 70,5	61,8 ± 5,5	44,0 ± 2,6	40,4 ± 7,8	43,7 ± 7,0	59,5 ± 13,0	112,5 ± 17,7
		8	69,8 ± 10,4	46,5 ± 6,0	29,0 ± 3,4	31,0 ± 1,7	32,2 ± 2,8	44,1 ± 4,4	107,5 ± 21,0
		24	34,9 ± 10,9	19,2 ± 5,5	12,0 ± 2,2	10,2 ± 3,6	13,9 ± 1,0	12,6 ± 3,7	117,0 ± 20,7
7	168	0	289,3 ± 7,0	339,3 ± 22,5	429,7 ± 20,0	505,3 ± 26,8	595,7 ± 6,7	645,3 ± 41,3	219,3 ± 10,8
		2	210,0 ± 13,1	99,55 ± 8,0	82,4 ± 10,8	83,1 ± 16,4	86,5 ± 13,8	82,5 ± 2,3	115,7 ± 9,6
		4	76,2 ± 18,1	65,8 ± 14,7	53,2 ± 11,9	54,3 ± 12,8	60,1 ± 4,8	57,4 ± 10,9	110,3 ± 6,4
		6	69,8 ± 7,6	44,7 ± 2,5	42,7 ± 9,1	42,8 ± 8,3	46,4 ± 4,3	54,3 ± 16,3	101,3 ± 4,2
		8	58,0 ± 13,9	34,8 ± 0,8	32,2 ± 5,4	28,7 ± 2,2	34,4 ± 9,6	36,0 ± 13,5	111,0 ± 15,8
		24	30,6 ± 12,5	17,0 ± 0,8	17,5 ± 3,5	16,7 ± 1,6	14,9 ± 1,5	15,8 ± 3,8	99,0 ± 22,3

концентрации покрытых флокулянт и непокрытых частиц [18–20].

Как следует из представлений о химической природе флокулирующих процессов, логично, что с увеличением содержания флокулянта происходило более интенсивное образование хлопьев, что и отмечалось в исследованиях.

При изучении возможности осаждения детрита при концентрации полисепта 0,007% (рис. 2А, табл. 2) установили, что через 4 ч при использовании четырех партий мутность уменьшалась на 68,3–82,0% (в 3,1–5,7 раза) до средних значений степени мутности (различия существенны, $p < 0,005$). При исследовании партии № 48 мутность понижалась через 6 ч на 74% (в 3,9 раза), а партии № 343 – через 24 ч на 88% (в 8,2 раза). При проверке партии полисепта

№ 522 даже через 24 ч не обнаружили осаждения клеточного детрита.

При увеличении в 1,5 раза (0,0105%) количества вносимого флокулянта уже через 2 ч мутность суспензии с полимером шести партий падала на 57–81% (в 2,3–5,3 раза), но все равно оставалась высокой (рис. 2В, табл. 2). Через 4 ч мутность снижалась на 80–87% до средних значений (16–100 FNU) при исследовании пяти партий ПГМГ-гидрохлорида. При использовании партии № 343 при данной концентрации мутность уменьшалась через 6 ч, а при внесении партии № 522 достаточного осаждения клеточного детрита не наблюдали и через 24 ч.

В дальнейших исследованиях при увеличении процентного содержания полисепта до 0,05316 (в 7,5 раза) отмечали быстрое осаждение детрита уже через 2 ч. Через 24 ч (согласно технологическому процессу производства противоящурной вакцины) мутность суспензии была в пределах 10–20 FNU, что являлось хорошим показателем флокуляции (рис. 2С–Е, табл. 2).

Отмечено, что в контрольных образцах без флокулянта также происходило осаждение детрита (рис. 2Г, табл. 2), однако уменьшение мутности за счет естественной седиментации было только в 1,1–2,2 раза, и через 24 ч значение степени мутности оставалось преимущественно более 100 FNU, что является недостаточным для технологического процесса.

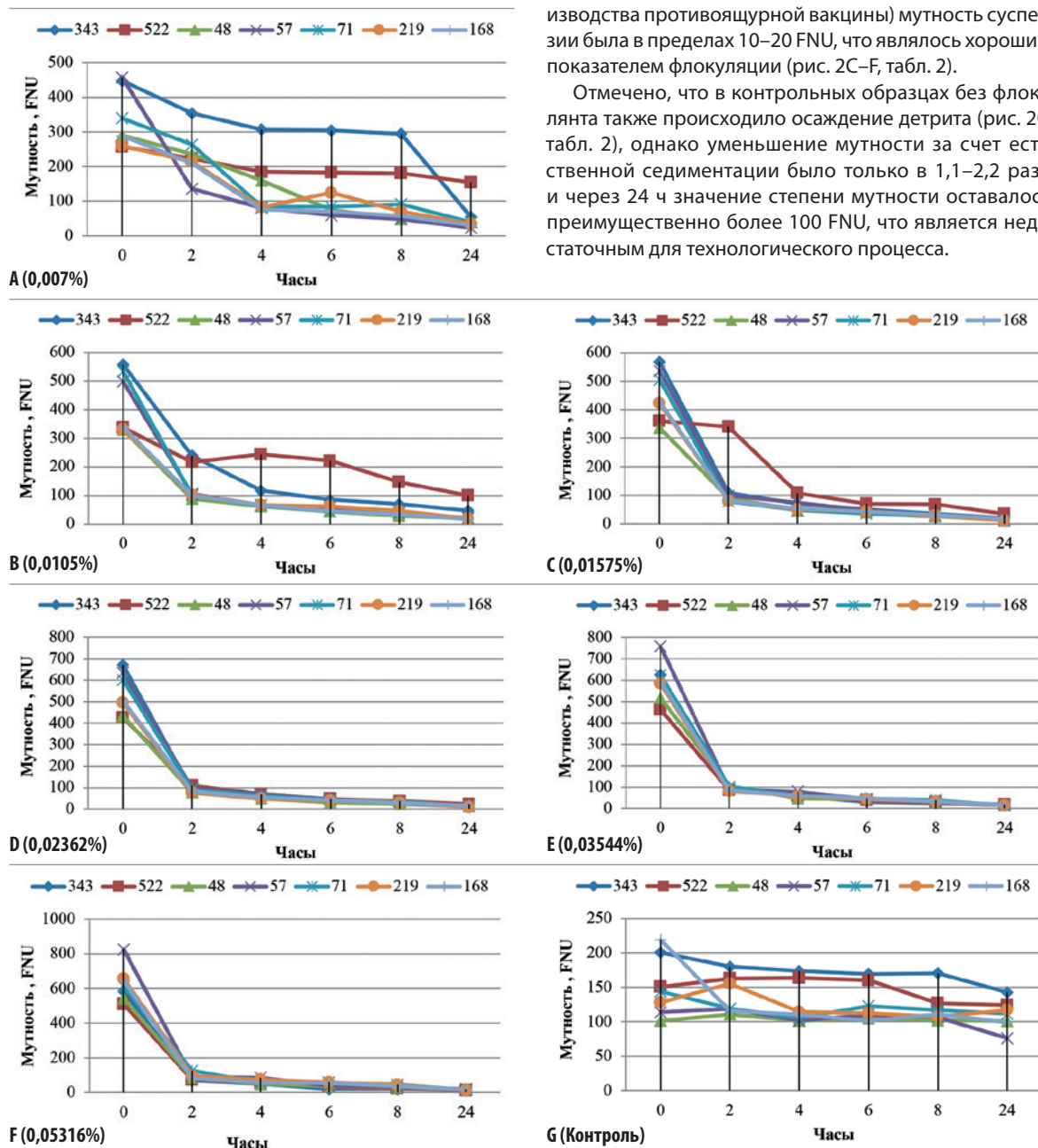


Рис. 2. Динамика изменения флокулирующих свойств партий полисепта при внесении разного количества полимера

Fig. 2. Dynamics of flocculation properties of polysept batches at different polymer concentrations

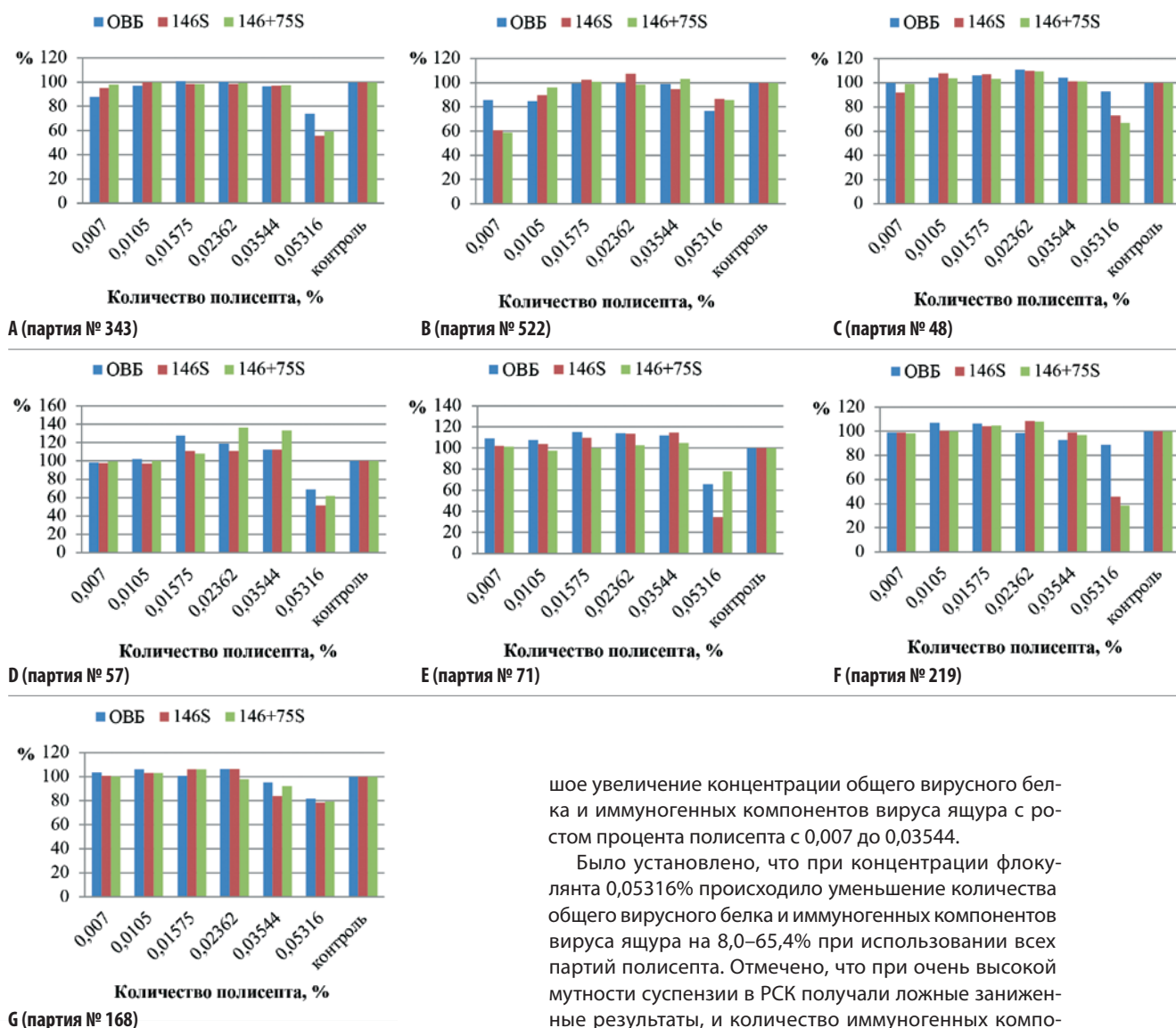


Рис. 3. Динамика относительных изменений общего вирусного белка (ОВБ) и иммуногенных компонентов вируса ящура при использовании разных партий полисепта

Fig. 3. Relative changes in concentrations of total viral protein (TVP) and immunogenic components of FMD virus supplemented with polysept of different batches

На следующих этапах работы контролировали концентрации общего вирусного белка и компонентный состав антигена вируса ящура.

Так как в исследовании применяли антигены разных штаммов вируса ящура, то вычислять потери в абсолютных показателях при использовании разного процентного содержания ПГМГ-гидрохлорида было некорректно. Исходя из этого, потери учитывали в относительных показателях, принимая за 100% показатели в контрольном производственном образце (0,01% полисепта). Результаты исследований представлены на рисунке 3.

Поскольку с повышением процентного содержания флокулянта происходило более качественное осветление антигена, а также снижение антикомплемментарности препаратов антигена вируса при исследовании в РСК, вероятно, этим можно было объяснить неболь-

шое увеличение концентрации общего вирусного белка и иммуногенных компонентов вируса ящура с ростом процента полисепта с 0,007 до 0,03544.

Было установлено, что при концентрации флокулянта 0,05316% происходило уменьшение количества общего вирусного белка и иммуногенных компонентов вируса ящура на 8,0–65,4% при использовании всех партий полисепта. Отмечено, что при очень высокой мутности суспензии в РСК получали ложные заниженные результаты, и количество иммуногенных компонентов было ниже контроля на 14,5–39,3% (рис. 3).

На заключительном этапе проводили измерение осмоляльности растворов флокулянта разной концентрации всех исследуемых партий (рис. 4). Осмоляльность полисепта партии № 522 значительно отличалась от других при всех процентных соотношениях веществ (различия существенны, $p < 0,001$). Так, при использовании 6%-го ПГМГ-гидрохлорида осмоляльность данной партии была 324 ± 4 mOsm, в то время как в других она варьировала от 241 ± 3 до 288 ± 4 mOsm. При содержании в растворе 14% полимера различия были еще выше: 664 ± 8 mOsm – в партии № 522 и 482 ± 5 и 573 ± 10 mOsm – в остальных партиях.

Таким образом, при проверке пригодности партий полисепта для производства противоящурных вакцин целесообразно проверять флокулирующие качества полимера при разных его концентрациях (0,007; 0,0105; 0,01575%) на протяжении 24 ч. Использование более высоких концентраций ПГМГ-гидрохлорида экономически невыгодно.

При производстве противоящурных вакцин используют 10%-й раствор полисепта. Осмоляльность данной процентной концентрации ПГМГ-гидрохлорида всех пригодных для производства партий была в границах 370–440 mOsm. Осмоляльность полимера партии № 522 была выше и составила 504 ± 5 mOsm.

Таблица 3

Границы осмоляльности для определения пригодности полигексаметиленгуанидин гидрохлорида в производстве противоящурных вакцин

Table 3

Osmolality reference values for determination of polyhexamethylene guanidine hydrochloride suitability for FMD vaccine production

Концентрация ПГМГ-гидрохлорида, %	Значение осмоляльности, mOsm
6	260 ± 20
8	330 ± 25
10	400 ± 25
12	460 ± 30
14	520 ± 20

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлены критерии пригодности ПГМГ-гидрохлорида для производства противоящурных вакцин:

- динамика флокулирующих свойств партии полимера при использовании различных концентраций (0,0105 и 0,01575%) в течение 24 ч. Спустя это время при использовании полисепта в данных концентрациях мутность должна быть не более 30 FNU (табл. 2);
- определение осмоляльности растворов ПГМГ-гидрохлорида разной процентной концентрации (6, 8, 10, 12, 14%), которая должна укладываться в диапазон референс-значений, указанных в таблице 3.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Воинцева И. И., Нижник Т. Ю., Стрикаленко Т. В., Баранова А. И. Антикоррозийные свойства обеззараживающих реагентов на основе полигексаметиленгуанидина гидрохлорида. *Вода: химия и экология*. 2018; 10–12 (117): 99–108. eLIBRARY ID: 36759773.
2. Оробец К. С., Худокормов А. А., Карасева Э. В., Самков А. А., Волченко Н. Н., Джима С. С. Дезинфицирующее средство для защиты строительных материалов от биоповреждений. Патент № 2740197 Российская Федерация, МПК A61L 2/18 (2006.01), A61L 101/02 (2006.01), A61L 101/32 (2006.01), C09D 5/14 (2006.01). ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет». № 2020113857. Заявл. 03.04.2020. Оpubл. 12.01.2021. Бюл. № 2.
3. Хаширова С. Ю., Жанситов А. А., Хараева З. Ф., Хаширова С. С. Дезинфицирующий полимерный антисептик. Патент № 2754222 Российская Федерация, МПК A01N 33/12 (2006.01), A01N 37/04 (2006.01), A01P 1/00 (2006.01). ООО «Полимерные композиты». № 2021105456. Заявл. 03.03.2021. Оpubл. 30.08.2021. Бюл. № 25.
4. ПГМГ-гидрохлорид – полигексаметиленгуанидин гидрохлорид. Институт эколого-технологических проблем (РОО ИЭТП). Режим доступа: <http://polyguanidines.ru> (дата обращения: 01.12.2021).
5. Курицкая Т. О., Наумов Н. М., Железнякова А. А., Володин А. Д., Наумов М. М. Использование препаратов полигексаметиленгуанидин гидрохлорида (ПГМГ ГХ) в лечении ран. *Региональный вестник*. 2017; 1 (6): 2–9. eLIBRARY ID: 30607322.
6. Новиков М. Г., Иванов С. И., Малышев В. В., Кукушкин И. В. Новые бесхлорные технологии в очистке и обеззараживании питьевой воды. *Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение*. 2012; 10 (58): 48–56. eLIBRARY ID: 17949253.
7. Очиров О. С., Разуваева Я. Г., Бадмаев Н. С., Стельмах С. А., Могнов Д. М. Ранозаживляющее действие гидрогеля на основе полигуанидинов. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1 (5): 117–120. DOI: 10.12737/23405.
8. Вакуленко В. В., Гембицкий П. А. Способ защиты картофеля и овощей при хранении. Патент № 2048721 Российская Федерация, МПК A01N 47/44 (2006.01), A01C 1/00 (2006.01), A01N 57/20 (2006.01), A01P 15/00 (2006.01). Аграрное научно-техническое общество «Антекс-Биос». № 94001523/15. Заявл. 21.01.1994. Оpubл. 27.11.1995.
9. Пустовалов И. В., Емелин Е. А., Щерба В. Ю. Способ определения массовой доли основного вещества в полигексаметиленгуанидин-

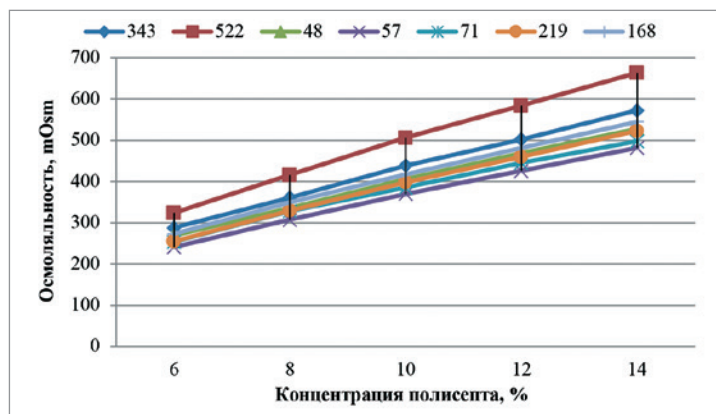


Рис. 4. Динамика роста осмоляльности с увеличением процента полисепта

Fig. 4. Osmolality dynamics at different polysept concentrations

гидрохлориде. Патент № 2336522 Российская Федерация, МПК G01N 31/16 (2006.01). Общество с ограниченной ответственностью «ФАРМА-ПОКРОВ». № 2007125199/04. Заявл. 03.07.2007. Оpubл. 20.10.2008. Бюл. № 29.

10. Лезова Т. Н., Улупов Н. А., Борисов В. В., Михалишин В. В., Дудников А. И., Гембицкий П. А. Способ очистки и стерилизации культурального вируса ящура. Патент № 2054039 Российская Федерация, МПК C12N 7/02, A61K 39/135. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных. № 5026100/13. Заявл. 07.02.1992. Оpubл. 10.02.1996.

11. Поповкин В. В., Глухов И. С., Антонов М. И. Способ получения полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Патент № 2489452 Российская Федерация, МПК C08G 73/00 (2006.01), A61L 2/16 (2006.01). Общество с ограниченной ответственностью «Компания Вереск». № 2012117497/04. Заявл. 26.04.2012. Оpubл. 10.08.2013. Бюл. № 22.

12. Соловьев В. М. Способ получения полигексаметиленгуанидин гидрохлорида. Патент № 2191606 Российская Федерация, МПК A61L 2/16 (2006.01), C07C 279/00 (2006.01). № 2001116239/14. Заявл. 18.06.2001. Оpubл. 27.10.2002.

13. Кондауров Б. П., Архипов Г. С., Захарова А. А., Чесунов В. М., Бахшиева Л. Т., Александров В. И. и др. Флокулянт для очистки хромосодержащих сточных вод. Патент № 2033394 Российская Федерация, МПК C02F 1/56 (2006.01), C02F 101/22 (2006.01), C02F 103/24 (2006.01). Акционерное общество «Рязанский кожевенный завод». № 4954072/26. Заявл. 25.06.1991. Оpubл. 20.04.1995.

14. Стариков В. А., Михалишин Д. В., Лезова Т. Н., Борисов В. В. Совершенствование методов очистки культурального вируса ящура. *Ветеринария и кормление*. 2014; 2: 21–22. Режим доступа: <http://vetkorm.ru/magazines/veterinariya-i-kormlenie-2-mart-aprel-2014g>.

15. Лозовой Д. А., Гусева М. Н., Михалишин Д. В., Доронин М. И., Манин Б. Л., Шишкова А. А. и др. ВНК-21/SUSP/ARRIAN – перевиваемая суспензионная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вирусов ящура, бешенства, паратифа-3, болезни Ауески при производстве противоящурных вакцин, а также для изготовления диагностических и профилактических ветеринарных биопрепаратов. Патент № 2722671 Российская Федерация, МПК C12N 5/10 (2006.01). ФГБУ «ВНИИЗЖ». № 2019131190. Заявл. 01.10.2019. Оpubл. 02.06.2020. Бюл. № 16.

16. Instruction Manual: HI 98713 ISO Portable Turbiditymeter. Hanna Instruments. Режим доступа: <https://www.manualslib.com/manual/464554/Hanna-Instruments-Hi-98713.html>.

17. Лозовой Д. А., Михалишин Д. В., Стариков В. А., Шишкова А. А., Доронин М. И., Медведева Н. Н. и др. Методические рекомендации по определению концентрации 146S, 75S, 12S компонентов вакцинных штаммов культурального вируса ящура в реакции связывания компонента (РСК). Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2017.

18. Волков В. А. Коллоидная химия. Поверхностные явления и дисперсные системы: учебник. 2-е изд., испр. СПб.: Лань; 2015. 672 с. Режим доступа: https://www.rulit.me/data/programs/resources/pdf/Volkov_Kolloidnaya-himiya_RuLit_Me_566490.pdf.

19. Максимкина Л. М., Журавлев В. А. Применение метацида для очистки шахтных вод. *Водоснабжение и санитарная техника*. 1995; 10: 13.

20. Онищенко А. В., Кузьмин А. А., Старостин В. Н., Мазитова В. А., Косточко А. В. Влияние флокулянтов на электрокинетические и седиментационные свойства водных суспензий нитратов целлюлозы. *Химия и технология воды*. 1996; 18 (4): 352–355.

REFERENCES

- Vointseva I. I., Nizhnik T. Yu., Strikalenko T. V., Baranova A. I. Anti-corrosive properties of disinfectant reagents based on polyhexamethylene guanidine hydrochloride. *Water: Chemistry and Ecology*. 2018; 10–12 (117): 99–108. eLIBRARY ID: 36759773. (in Russ.)
- Orobets K. S., Khudokormov A. A., Karaseva E. V., Samkov A. A., Volchenko N. N., Dzhimak S. S. Disinfectant for protecting building materials from bodily damages. Patent No. 2740197 Russian Federation, Int. A61L 2/18 (2006.01), A61L 101/02 (2006.01), A61L 101/32 (2006.01), C09D 5/14 (2006.01). FGBOU VO "Kubanskij gosudarstvennyj universitet". No. 22020113857. Date of filing: 03.04.2020. Date of publication: 12.01.2021. Bull. No. 2. (in Russ.)
- Khashirova S. Yu., Zhansitov A. A., Kharaeva Z. F., Khashirova S. S. Disinfecting polymer antiseptic. Patent No. 2754222 Russian Federation, Int. A01N 33/12 (2006.01), A01N 37/04 (2006.01), A01P 1/00 (2006.01). OOO "Polimernye kompozity". No. 2021105456. Date of filing: 03.03.2021. Date of publication: 30.08.2021. Bull. No. 25. (in Russ.)
- PGMG-gidrokhlid – poligeksametilenguanidin gidrokhlid = PHMG hydrochloride – polyhexamethylene guanidine hydrochloride. Institute of Environmental and Technological Problems (ROO IETP). Available at: <http://polyguanidines.ru> (date of access: 01.12.2021). (in Russ.)
- Kuritskaya T. O., Naumov N. M., Zheleznyakova A. A., Volodin A. D., Naumov M. M. Ispol'zovanie preparatov poligeksametilenguanidin gidrokhlida (PGMG GKh) v lechenii ran = The use of polyhexamethylene guanidine hydrochloride (PHMG HCL) preparations in wound treatment. *Regional'ny vestnik*. 2017; 1 (6): 2–9. eLIBRARY ID: 30607322. (in Russ.)
- Novikov M. G., Ivanov S. I., Malyshev V. V., Kukushkin I. V. Novye beskhlornye tekhnologii v oчитске i obezrazazhivanii pit'voi vody = New chlorine-free technologies in potable water purification and decontamination. *Vodoochistka. Vodopodgotovka. Vodosnabzhenie*. 2012; 10 (58): 48–56. eLIBRARY ID: 17949253. (in Russ.)
- Ochirov O. S., Razuvaeva Y. G., Badmaev N. S., Stelmakh S. A., Mogonov D. M. Wound-healing effect of polyguanidine-based hydrogel. *Acta Biomedica Scientifica*. 2016; 1 (5): 117–120. DOI: 10.12737/23405. (in Russ.)
- Vakulenko V. V., Gembitskij P. A. Method for protecting potatoes and vegetables in storage. Patent No. 2048721 Russian Federation, Int. A01N 47/44 (2006.01), A01C 1/00 (2006.01), A01N 57/20 (2006.01), A01P 15/00 (2006.01). Agrarnoe nauchno-tekhnicheskoe obshchestvo "Anteks-Bios". No. 94001523/15. Date of filing: 21.01.1994. Date of publication: 27.11.1995. (in Russ.)
- Pustovalov I. V., Emelin E. A., Shcherba V. Ju. Method of determination of main substance main fraction in polyhexamethyleneguanidinechloride. Patent No. 2336522 Russian Federation, Int. G01N 31/16 (2006.01). Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennost'ju "FARMA-POKROV". No. 2007125199/04. Date of filing: 03.07.2007. Date of publication: 20.10.2008. Bull. No. 29. (in Russ.)
- Lezova T. N., Ulupov N. A., Borisov V. V., Mikhailishin V. V., Dudnikov A. I., Gembitskij P. A. Method of purification and sterilization of cultured foot-and-mouth virus. Patent No. 2054039 Russian Federation, Int. C12N 7/02, A61K 39/135. Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institut zashchity zhivotnykh. No. 5026100/13. Date of filing: 07.02.1992. Date of publication: 10.02.1996. (in Russ.)
- Popovkin V. V., Glukhov I. S., Antonov M. I. Method of producing polyhexamethylene guanidine hydrochloride. Patent No. 2489452 Russian Federation, Int. C08G 73/00 (2006.01), A61L 2/16 (2006.01). Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvennost'ju "Kompanija Veresk". No. 2012117497/04. Date of filing: 26.04.2012. Date of publication: 10.08.2013. Bull. No. 22. (in Russ.)
- Solov'ev V. M. Method of synthesis of polyhexamethylene-guanidine hydrochloride. Patent No. 2191606 Russian Federation, Int. A61L 2/16 (2006.01), C07C 279/00 (2006.01). No. 2001116239/14. Date of filing: 18.06.2001. Date of publication: 27.10.2002. (in Russ.)
- Kondaurov B. P., Arkhipov G. S., Zakharova A. A., Chesunov V. M., Bakhshieva L. T., Aleksandrov V. I., et al. Flocculant for treatment of chrome-containing sewage. Patent No. 2033394 Russian Federation, Int. C02F 1/56 (2006.01), C02F 101/22 (2006.01), C02F 103/24 (2006.01). No. 4954072/26. Date of filing: 25.06.1991. Date of publication: 20.04.1995. (in Russ.)
- Starikov V., Mikhailishin D., Lyozova T., Borisov A. Improvement of methods of cultural FMD virus purification. *Veterinariya i kormlenie*. 2014; 2: 21–22. Available at: <http://vetkorm.ru/magazines/veterinariya-i-kormlenie-2-mart-aprel-2014g>. (in Russ.)
- Lozovoy D. A., Guseva M. N., Mikhailishin D. V., Doronin M. I., Manin B. L., Shishkova A. A., et al. BHK-21/SUSP/ARRIAH – continuous suspension subline of newborn syrian hamster kidney cells, intended for reproduction of foot-and-mouth disease viruses, rabies, parainfluenza-3, Aujeszky's disease in producing antiviral vaccines, as well as for making diagnostic and preventive veterinary biopreparations. Patent No. 2722671 Russian Federation, Int. C12N 5/10 (2006.01). FGBI "ARRIAH". No. 2019131190. Date of filing: 01.10.2019. Date of publication: 02.06.2020. Bull. No. 16. (in Russ.)
- Instruction Manual: HI 98713 ISO Portable Turbidimeter. Hanna Instruments. Available at: <https://www.manualslib.com/manual/464554/Hanna-Instruments-Hi-98713.html>.
- Lozovoy D. A., Mikhailishin D. V., Starikov V. A., Shishkova A. A., Doronin M. I., Medvedeva N. N., et al. Methodical guidelines for determination of concentration of 146S, 75S, 12S components of vaccine strains of culture FMD virus with complement fixation test (CFT). Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2017. (in Russ.)
- Volkov V. A. Colloid chemistry. Surface phenomena and dispersed systems: a textbook. 2nd ed., revised. Saint Petersburg: Lan'; 2015. 672 p. Available at: https://www.rulit.me/data/programs/resources/pdf/Volkov_Kolloidnaya-himiya_RuLit_Me_566490.pdf. (in Russ.)
- Maksimkina L. M., Zhuravlev V. A. Primenenie metatsida dlya oчитski shakhtnykh vod = The use of metacid for purification of mine waters. *Water Supply and Sanitary Technique*. 1995; 10: 13.
- Onishchenko A. V., Kuz'min A. A., Starostin V. N., Mazitova V. A., Kostochko A. V. The effect of flocculants on electrokinetic and sedimentation properties of aqueous suspensions of cellulose nitrates. *Journal of Water Chemistry and Technology*. 1996; 18 (4): 352–355. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 18.05.2022

Поступила после рецензирования / Revised 02.06.2022

Принята к публикации / Accepted 17.06.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Гусева Марина Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Доронин Максим Игоревич, кандидат биологических наук, заведующий сектором биотехнологии лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

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

Гочмурадов Ыхлас Мурадович, аспирант, ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Михалишин Валерий Васильевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный эксперт информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Елькина Юлия Сергеевна, ведущий биолог лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Marina N. Guseva, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

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

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

Gochmuradov Ykhlal Muradovich, Post-Graduate Student, Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Valery V. Mikhailishin, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Expert, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Yulia S. El'kina, Leading Biologist, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.



Оптимизация состава питательной среды и изучение стадий роста изолята «Калуга 2020» *Mycoplasma bovis*

Мохаммад Абед Алхуссен¹, А. А. Нестеров², А. В. Спрыгин³, И. Н. Шумилова⁴, М. С. Брянцева⁵, О. П. Бьядовская⁶

¹ ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» (РУДН), г. Москва, Россия;

²⁻⁶ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-1210-0303>, e-mail: alhussenmohammed85@hotmail.com

² <https://orcid.org/0000-0002-4288-1964>, e-mail: nesterov@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5982-3675>, e-mail: sprygin@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-6132-5771>, e-mail: shumilova@arriah.ru

⁵ e-mail: bryantseva@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-8326-7151>, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Mycoplasma bovis является одним из возбудителей микоплазмозов крупного рогатого скота, вызывающим респираторные болезни, мастит, артрит и кератоконъюнктивит. В статье представлены результаты исследования по оптимизации компонентного состава питательной среды для культивирования изолята «Калуга 2020» *Mycoplasma bovis*, а также изучения стадий роста возбудителя. Для определения активности микоплазм использовали метод измерения цветоизменяющих единиц и культуральный метод с подсчетом колониеобразующих единиц. Установлено, что при культивировании в оптимизированной питательной среде на основе модифицированного бульона Хейфлика микроорганизм вступает в фазу логарифмического роста по истечении первых 24 ч роста, через 72 ч культура микоплазм переходит в стабильный период, а через 84 ч регистрируется фаза спада. Влияние процентного содержания глюкозы, свежего дрожжевого экстракта и сыворотки крови лошади в питательной среде на накопление изолята «Калуга 2020» *Mycoplasma bovis* оценивали с использованием метода «один фактор за раз». Было установлено, что наибольшее влияние на накопление микоплазм оказывало содержание в питательной среде таких факторов роста, как свежий дрожжевой экстракт и сыворотка крови лошади ($p < 0,05$), в то время как изменение количества глюкозы не стимулировало рост *Mycoplasma bovis*. В результате проведенных исследований определен подходящий состав и подобрано оптимальное содержание факторов роста в среде для культивирования изолята «Калуга 2020» *Mycoplasma bovis*: 12,5% свежего дрожжевого экстракта и 25% сыворотки крови лошади. Применение оптимизированной питательной среды на основе модифицированного бульона Хейфлика позволило увеличить накопление биомассы микоплазм в 5 раз ($3,98 \times 10^9$ КОЕ/мл) по сравнению со стандартной средой ($0,79 \times 10^9$ КОЕ/мл).

Ключевые слова: *Mycoplasma bovis*, крупный рогатый скот, изолят «Калуга 2020», оптимизация, питательные среды, колониеобразующие единицы (КОЕ), цветоизменяющая единица (ЦИЕ), биологическая активность

Для цитирования: Абед Алхуссен М., Нестеров А. А., Спрыгин А. В., Шумилова И. Н., Брянцева М. С., Бьядовская О. П. Оптимизация состава питательной среды и изучение стадий роста изолята «Калуга 2020» *Mycoplasma bovis*. Ветеринария сегодня. 2022; 11 (3): 262–267. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-262-267.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Optimization of medium composition and study of growth stages of *Mycoplasma bovis* “Kaluga 2020” isolate

Mohammad Abed Alhussen¹, A. A. Nesterov², A. V. Sprygin³, I. N. Shumilova⁴, M. S. Bryantseva⁵, O. P. Byadovskaya⁶

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

²⁻⁶ FGBI “Federal Centre for Animal Health” (FGBI “ARRIAH”), Vladimir, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-1210-0303>, e-mail: alhussenmohammed85@hotmail.com

² <https://orcid.org/0000-0002-4288-1964>, e-mail: nesterov@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-5982-3675>, e-mail: sprygin@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-6132-5771>, e-mail: shumilova@arriah.ru

⁵ e-mail: bryantseva@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-8326-7151>, e-mail: bjadovskaya@arriah.ru

SUMMARY

Mycoplasma bovis is considered one of bovine mycoplasmosis pathogens responsible for respiratory diseases, mastitis, arthritis and keratoconjunctivitis. The paper presents results of the study on optimizing the component composition of the culture medium for *Mycoplasma bovis* "Kaluga 2020" isolate, as well as the study of this pathogen's growth stages. The color-changing units assay and the culture method combined with colony-forming unit quantification were used for determination of *Mycoplasma* activity. It was found that when cultured in an optimized nutrient medium based on modified Hayflick broth, the microorganism enters a logarithmic growth phase after first 24 hours of growth, in 72 hours the *Mycoplasma* culture enters a stability phase, and a decline phase is recorded in 84 hours. The effect of percentage content of glucose, fresh yeast extract and horse serum in the nutrient medium on accumulation of *Mycoplasma bovis* "Kaluga 2020" isolate was evaluated using the one-factor-at-a-time approach. It was found that the greatest effect on *Mycoplasma* accumulation was exerted by such growth factors as fresh yeast extract and horse serum in the nutrient medium ($p < 0.05$), while changes in the amount of glucose did not stimulate *Mycoplasma bovis* growth. Based on results of the conducted studies, the appropriate composition was determined and the optimal content of growth factors in the medium for culturing *Mycoplasma bovis* "Kaluga 2020" isolate was selected: 12.5% of fresh yeast extract and 25% of horse serum. The use of the optimized nutrient medium based on modified Hayflick broth allowed 5-fold increase in accumulation of *Mycoplasma* biomass (3.98×10^9 CFU/ml) compared to the standard medium (0.79×10^9 CFU/ml).

Keywords: *Mycoplasma bovis*, cattle, "Kaluga 2020" isolate, optimization, nutrient media, colony-forming units (CFU), color-changing unit (CCU), biological activity

For citation: Abed Alhussen M., Nesterov A. A., Sprygin A. V., Shumilova I. N., Bryantseva M. S., Byadovskaya O. P. Optimization of medium composition and study of growth stages of *Mycoplasma bovis* "Kaluga 2020" isolate. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 262–267. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-262-267.

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

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

ВВЕДЕНИЕ

Возбудитель микоплазмозов крупного рогатого скота – *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) – широко распространен во всем мире, в том числе в Российской Федерации [1, 2]. Данный патоген является одним из этиологических агентов респираторных болезней крупного рогатого скота, он также вызывает такие заболевания, как мастит, артрит и кератоконъюнктивит [3, 4].

Впервые *M. bovis* была выделена в США в 1961 г. от крупного рогатого скота с тяжелой формой мастита [5, 6]. Считается, что на долю *M. bovis* приходится от четверти до трети всех экономических потерь от респираторных заболеваний в животноводстве [7].

Лабораторная диагностика микоплазмозов крупного рогатого скота включает культуральные, серологические и молекулярные методы исследования [8, 9]. При этом выделение возбудителя путем культивирования на питательных средах – один из самых надежных методов диагностики заболеваний. В настоящее время для культивирования *M. bovis* широко используют различные виды питательных сред, в том числе Хейфлика [10], модифицированный PPLO [11], Eaton's [12] и другие.

Оптимизация состава питательной среды является одним из важнейших аспектов для усовершенствования технологии культивирования микоплазм, в том числе и при проведении диагностических исследований методом выделения [13]. При этом сложность компонентного состава питательных сред и длительный период роста микоплазм обуславливает необходимость проведения многоэтапных исследований [14].

Определение скорости роста и активности микоплазм проводят несколькими методами: измерением цветоизменяющих единиц (ЦИЕ), подсчетом колониеобразующих единиц (КОЕ), измерением мутности, восстановлением солей тетразолия до формазана,

определением клеточных концентраций аденозинтрифосфата (АТФ) с помощью люминометрии люциферин-люциферазы и др. [15].

Целью исследования явилось изучение динамики роста *M. bovis* при культивировании *in vitro* и оптимизация компонентного состава питательной среды Хейфлика.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изолят. В работе использовали изолят «Калуга 2020» *M. bovis*, выделенный в 2020 г. из проб биологического материала, отобранных от телят с клиническими признаками респираторной патологии. Идентификацию изолята *M. bovis* проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Питательные среды. В качестве стандартной жидкой питательной среды использовали модифицированный бульон Хейфлика [16]. Для его приготовления применяли BBL™ Mycoplasma Broth Base (BD, США). Основу бульона BBL™ Mycoplasma в количестве 20 г растворяли в 1 л дистиллированной воды, тщательно перемешивали и стерилизовали автоклавированием при температуре $(121 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 15 мин, после чего охлаждали до $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$. На 100 мл среды добавляли 20 мл ненагретой сыворотки крови лошади, 0,5 мл 40%-го раствора глюкозы, 10 мл свежего 25%-го раствора дрожжевого экстракта, 1,5 мл 0,5%-го раствора фенолового красного, 1 мл раствора пенициллина (200 000 ЕД/мл) и 0,04 мл 10%-го раствора ацетата таллия. Параметр pH готового бульона доводили до 7,8 ед. с помощью 1,0 М раствора NaOH.

Для приготовления твердой питательной среды к модифицированному бульону Хейфлика добавляли 6,7 г агара Bacto™ Agar (BD, США). После автоклавирования полуфабрикат охлаждали до температуры

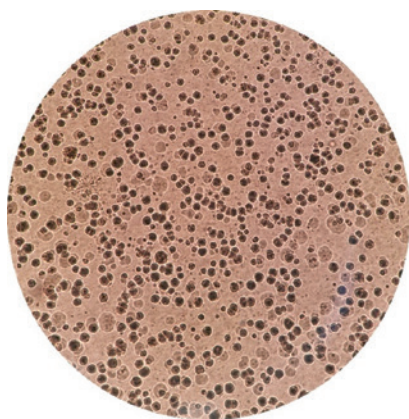


Рис. 1. 3-суточная культура *M. bovis* на твердой питательной среде (увеличение 20х)

Fig. 1. 3-day-old *M. bovis* culture grown in solid nutrient medium (magnification 20x)

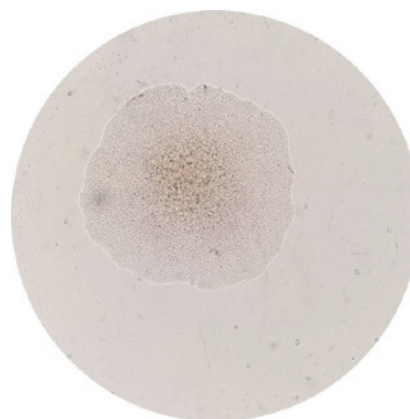


Рис. 2. 4-суточная культура *M. bovis* на твердой питательной среде (увеличение 40х)

Fig. 2. 4-day-old *M. bovis* culture grown in solid nutrient medium (magnification 40x)

(50 ± 2) °C, после чего вносили дополнительные компоненты среды согласно описанной выше прописи. Подготовленную питательную среду разливали по чашкам Петри, охлаждали до полного затвердевания и хранили при температуре (4 ± 2) °C.

Определение активности изолята «Калуга 2020» *M. bovis*. Для определения активности микоплазм использовали методы измерения ЦИЕ и культуральный с подсчетом КОЕ. В солевом растворе Хенкса готовили ряд десятикратных последовательных разведений суспензии, содержащей изолят «Калуга 2020» *M. bovis* (10^{-1} – 10^{-5}). По 10 мкл микробной суспензии из каждого разведения высевали на поверхность твердой питательной среды в трех повторностях. Посевы культивировали в термостате при температуре ($37 \pm 0,5$) °C в присутствии 5% CO_2 в течение 9 сут. Учет результатов титрования проводили путем подсчета количества одиночных колоний, высчитывая среднее количество КОЕ в 10 мкл наибольшего разведения суспензии, в котором наблюдался рост колоний *M. bovis*. Полученный результат использовали для вычисления количества КОЕ в 1 мл исходной суспензии испытуемого материала.

Оценку активности изолята «Калуга 2020» *M. bovis* с использованием метода измерения цветоизменя-

ющих единиц [17, 18] проводили в 96-луночных культуральных планшетах. В первых лунках планшета смешивали 20 мкл исходной суспензии *M. bovis* со 180 мкл модифицированного бульона Хейфлика с феноловым красным, далее приготовили серии десятикратных разведений исследуемой суспензии (10^{-1} – 10^{-10}). В качестве контроля питательной среды использовали лунки без добавления *M. bovis*. Планшеты инкубировали при температуре ($37 \pm 0,5$) °C в присутствии 5% CO_2 в течение 14 сут. Накопление продуктов метаболизма *M. bovis* приводит к смещению pH в кислую сторону, что вызывает изменение цвета индикатора с красного на желтый. Учет изменения цвета питательной среды и определение активности *M. bovis* в культуральной суспензии проводили каждые 24 ч.

Концентрацию в ЦИЕ/мл (титр) определяли как максимальное разведение содержащей *M. bovis* суспензии, в котором наблюдалось изменение цвета [19].

Контроль pH среды проводили с помощью pH-метра согласно инструкции по эксплуатации прибора.

Статистический анализ. Для анализа экспериментальных данных использовали программу Minitab/Statistics (версия 19.1, США). Полученные результаты были определены как достоверные ($p < 0,05$).

Таблица 1
Корреляция биологической активности *M. bovis* и значения ЦИЕ

Table 1
Correlation between *M. bovis* biological activity and CCU value

Время культивирования, ч	Изменение цвета среды	Биологическая активность микоплазм		pH
		Ig КОЕ/мл	Ig ЦИЕ/мл	
24	с красного на красно-оранжевый	7,0	5,0	7,4
72	с красно-оранжевого на оранжевый	8,9	10,0	7,2
96	с оранжевого на оранжево-желтый	8,0	9,0	7,1
168	с оранжево-желтого на желтый	6,4	4,0	6,8



Рис. 3. Фазы роста и накопление изолята «Калуга 2020» *M. bovis* при культивировании в модифицированном бульоне Хейфлика

Fig. 3. Growth phases and accumulation of *M. bovis* "Kaluga 2020" isolate when cultivated in modified Hayflick broth

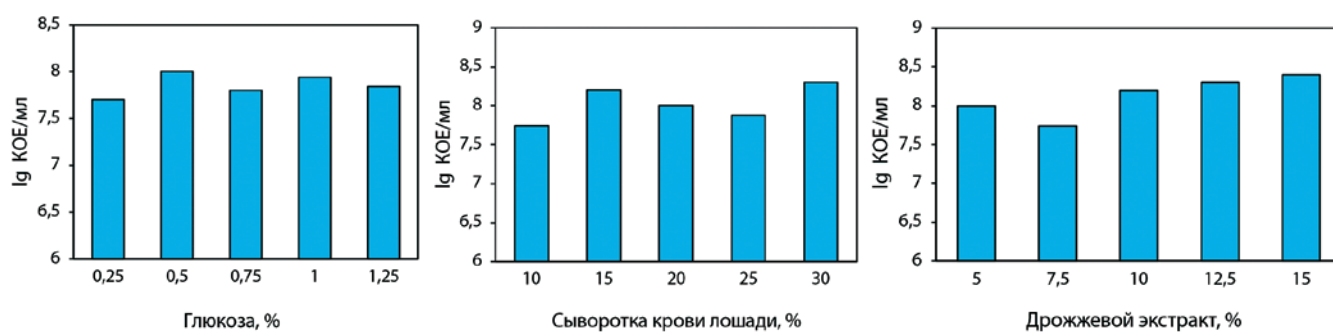


Рис. 4. Влияние различных компонентов питательной среды на накопление изолята «Калуга 2020» *M. bovis*

Fig. 4. Effect of various components of nutrient medium on accumulation of *M. bovis* "Kaluga 2020" isolate

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При культивировании *M. bovis* на твердой модифицированной среде Хейфлика наблюдали формирование колоний с неровными краями и приподнятой в виде соска серединой, что придает им вид «яичницы-глазуньи» (рис. 1, 2).

Определение фаз роста и времени максимального накопления изолята «Калуга 2020» *M. bovis* при культивировании в модифицированном бульоне Хейфлика. Культивирование изолята «Калуга 2020» *M. bovis* проводили при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 10 сут, при этом каждые 24 ч отбирали пробы культуральной суспензии и изучали активность *M. bovis* методами титрования с подсчетом КОЕ (культуральный способ) и определения цветоизменяющих единиц. Результаты исследования показали, что культура изолята «Калуга 2020» входила в логарифмическую фазу роста после 24 ч культивирования и максимальный уровень накопления биомассы микоплазм регистрировали к 72 ч, после чего наступала фаза спада со снижением биологической активности культивируемого материала (рис. 3).

Корреляция значений биологической активности микоплазм, определенных методом выявления цветоизменяющих единиц и культуральным способом. Анализ полученных результатов показал, что максимальное накопление изолята наблюдалось на 72-й ч культивирования ($8,9 \lg \text{КОЕ/мл}$). Указанное значение концентрации микоплазм коррелировало с изменением цвета питательной среды ($10 \lg \text{ЦИЕ/мл}$), что соответствовало показателю pH, равному 7,2. При более длительном культивировании регистрировали снижение биологической активности культурального материала до $6,4 \lg \text{КОЕ/мл}$, что было сопоставимо с концентрацией микроорганизмов, равной $4 \lg \text{ЦИЕ/мл}$ (табл. 1).

Определение оптимального состава питательной среды для культивирования изолята «Калуга 2020» *M. bovis*. На первом этапе работы устанавливали наиболее значимые для накопления изолята «Калуга 2020» *M. bovis* компоненты модифицированной среды Хейфлика. Исследования проводили путем изменения стандартного состава среды по трем компонентам: глюкоза, свежий дрожжевой экстракт и сыворотка крови лошади. При этом в каждой серии опытов изменяли процентное содержание только одного из трех компонентов при сохранении стандартных параметров других факторов роста.

Для определения влияния глюкозы на рост *M. bovis* использовали питательную среду с содержанием

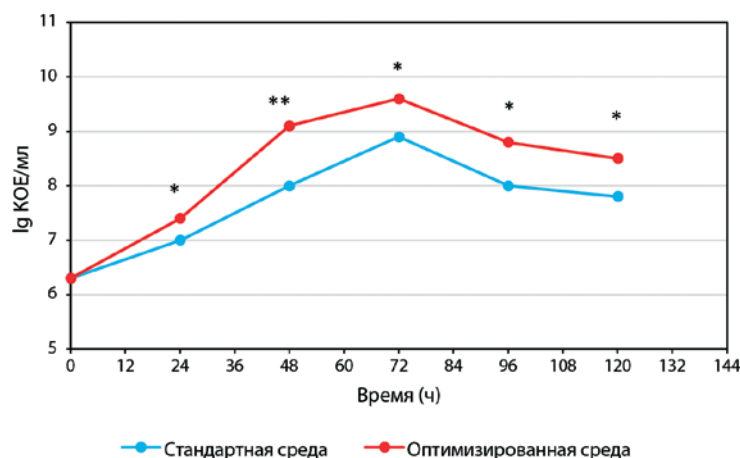
Таблица 2

Влияние состава питательных сред на накопление изолята «Калуга 2020» *M. bovis*

Table 2

Effect of nutrient medium composition on accumulation of *M. bovis* "Kaluga 2020" isolate

Номер эксперимента	Содержание исследуемых компонентов		lg КОЕ/мл
	свежий дрожжевой экстракт, %	сыворотка крови лошади, %	
1	5,0	10	7,80
2	7,5	10	7,90
3	10,0	10	8,00
4	12,5	10	8,20
5	15,0	10	7,90
6	5,0	15	7,70
7	7,5	15	7,90
8	10,0	15	8,00
9	12,5	15	8,20
10	15,0	15	7,80
11	5,0	20	7,70
12	7,5	20	7,90
13	10,0	20	8,10
14	12,5	20	8,00
15	15,0	20	7,80
16	5,0	25	8,10
17	7,5	25	7,90
18	10,0	25	8,00
19	12,5	25	9,60
20	15,0	25	7,79
21	5,0	30	7,50
22	7,5	30	7,85
23	10,0	30	8,00
24	12,5	30	7,80
25	15,0	30	7,60



* $p < 0,05$; ** $p < 0,001$.

Рис. 5. Активность изолята «Калуга 2020» *M. bovis* при культивировании в стандартной и оптимизированной питательной среде Хейфлика

Fig. 5. Activity of *M. bovis* "Kaluha 2020" isolate when cultivated in standard and optimized Hayflick medium

данного компонента в количестве 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,25%, свежего дрожжевого экстракта – 5,0; 7,5; 10,0; 12,5; 15,0%, сыворотки крови лошади – 10, 15, 20, 25, 30%. Контроль изменения биологической активности микоплазм проводили путем подсчета КОЕ методом титрования.

Полученные результаты показали, что наибольшее значение для накопления *M. bovis* имеет содержание в питательной среде двух факторов роста: свежего дрожжевого экстракта и сыворотки крови лошади, в то время как глюкоза не оказывает значительного влияния (рис. 4).

Выявив наиболее значимые факторы роста питательной среды, необходимо было определить их оптимальное соотношение. Для этого провели испытания 25 экспериментальных питательных сред с различным количеством указанных компонентов. Накопление *M. bovis* определяли методом титрования и выражали в lg KOE/мл.

Согласно данным таблицы 2, максимальная активность *M. bovis* (9,60 lg KOE/мл) наблюдается при культивировании в питательной среде, содержащей 12,5% свежего дрожжевого экстракта и 25% сыворотки крови лошади.

Полученные результаты подтверждаются данными изменения биологической активности изолята «Калуга 2020» *M. bovis* при культивировании в стандартной и оптимизированной питательной среде Хейфлика (рис. 5).

Биологическая активность *M. bovis* при культивировании в оптимизированной среде в среднем составляла $3,98 \times 10^9$ КОЕ/мл, что в 5 раз больше, чем при культивировании в стандартной питательной среде Хейфлика ($0,79 \times 10^9$ КОЕ/мл).

ОБСУЖДЕНИЕ

На основании результатов проведенных исследований можно заключить, что существует связь между фазой роста, накоплением микоплазм, показателем КОЕ и цветом питательной среды (ЦИЕ).

Переход от красного к оранжевому соответствовал фазе экспоненциального роста микоплазм, а при достижении ростового пика наблюдалось изменение цвета среды с красно-оранжевого на оранжевый. При дальнейшем культивировании цвет среды последовательно изменялся до оранжево-желтого и желтого, что соответствовало фазе спада в результате лизиса клеток и истощения внутриклеточного запаса АТФ. Подобные результаты подтверждаются данными, опубликованными зарубежными коллегами [15, 20].

Известно, что культивирование микоплазм – процесс трудоемкий [18] и поиск оптимальных сред для получения качественного биологического материала данных микроорганизмов имеет актуальное значение, в том числе и для производства средств специфической иммунопрофилактики микоплазмозов [21].

Установлено незначительное влияние глюкозы на рост и накопление *M. bovis*, что согласуется с литературными данными [22, 23].

Применение оптимизированной питательной среды на основе модифицированного бульона Хейфлика, содержащей 12,5% свежего дрожжевого экстракта и 25% сыворотки крови лошади, позволило увеличить накопление изолята «Калуга 2020» *M. bovis* в 5 раз ($3,98 \times 10^9$ КОЕ/мл) по сравнению со стандартной средой ($0,79 \times 10^9$ КОЕ/мл). Результаты, полученные при проведении аналогичных исследований по оптимизации состава питательной среды для культивирования *M. hyopneumoniae*, свидетельствуют только о трехкратном увеличении накопления микоплазм по сравнению со стандартной средой [13, 24].

Изучение роста *M. bovis*, а также определение периода лог-фазы может сыграть важную роль в будущих исследованиях по выделению микоплазм данного вида, культивированию и разработке вакцин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований показали, что по истечении первых 24 ч культивирования в жидкой среде изолят «Калуга 2020» *M. bovis* переходил в фазу логарифмического роста и через 72 ч достигал максимального уровня накопления. При более длительном культивировании начиная с 84-го ч наступала фаза спада, а биологическая активность получаемого материала снижалась.

Установлено, что наибольшее влияние на накопление изолята «Калуга 2020» *M. bovis* при культивировании в питательной среде Хейфлика оказывали факторы роста – свежий дрожжевой экстракт и сыворотка крови лошади. Подобрано оптимальное содержание данных компонентов в среде культивирования – 12,5 и 25% соответственно. Оптимизированная питательная среда на основе модифицированного бульона Хейфлика может быть использована для получения бактериального материала с целью разработки диагностических препаратов и средств специфической профилактики заболеваний, вызванных *M. bovis*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Абед Алхуссен М., Нестеров А. А., Кирпиченко В. В., Яценчук С. П., Спрыгин А. В., Бядовская О. П., Кононов А. В. Распространение микоплазмозов крупного рогатого скота на животноводческих фермах в Российской Федерации в период с 2015 по 2018 год. *Ветеринария сегодня*. 2020; (2): 102–108. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-102-108.
- Abed Alhussen M., Nesterov A. A., Kirpichenko V. V., Yatsentyuk S. P., Sprygina A. V., Byadovskaya O. P., Kononov A. V. Bovine mycoplasmosis

occurrence on livestock farms in the Russian Federation for 2015–2018. *Veterinary Science Today*. 2020; (2): 102–108. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-102-108.

2. Parker A. M., Sheehy P. A., Hazelton M. S., Bosward K. L., House J. K. A review of mycoplasma diagnostics in cattle. *J. Vet. Intern. Med.* 2018; 32 (3): 1241–1252. DOI: 10.1111/jvim.15135.

3. Kurčubić V., Doković R., Ilić Z., Petrović M. Etiopathogenesis and economic significance of bovine respiratory disease complex (BRDC). *Acta Agric. Serbica*. 2018; 23 (45): 85–100. DOI: 10.5937/AASer1845085K.

4. Niu J., Wang D., Yan M., Chang Z., Xu Y., Sizhu S., et al. Isolation, identification and biological characteristics of *Mycoplasma bovis* in yaks. *Microb. Pathog.* 2021; 150:104691. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104691.

5. Hale H. H., Helmboldt C. F., Plastring W. N., Stula E. F. Bovine mastitis caused by a *Mycoplasma* species. *Cornell Vet.* 1962; 52: 582–591. PMID: 13952069.

6. Абед Алхуссен М., Кирпиченко В. В., Яцентюк С. П., Нестеров А. А., Бьядовская О. П., Жбанова Т. В., Спрыгин А. В. Патогенные микоплазмы крупного рогатого скота *Mycoplasma bovis*, *M. bovis genitalium* и *M. dispar*: краткая характеристика возбудителей (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2021; 56 (2): 245–260. DOI: 10.15389/agrobiology.2021.2.245rus.

Abed Alhussen M., Kirpichenko V. V., Yatsentyuk S. P., Nesterov A. A., Byadovskaya O. P., Zhbanova T. V., Sprygin A. V. *Mycoplasma bovis*, *M. bovis genitalium* and *M. dispar* as bovine pathogens: brief characteristics of the pathogens (review). *Agricultural Biology*. 2021; 56 (2): 245–260. DOI: 10.15389/agrobiology.2021.2.245eng.

7. 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.

8. Andersson A. M., Aspán A., Wisselink H. J., Smid B., Ridley A., Pelkonen S., et al. European inter-laboratory trial to evaluate the performance of three serological methods for diagnosis of *Mycoplasma bovis* infection in cattle using latent class analysis. *BMC Vet. Res.* 2019; 15 (1): 369. DOI: 10.1186/s12917-019-2117-0.

9. Montagnani F., Rossetti B., Vannoni A., Cusi M. G., De Luca A. Laboratory diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections: data analysis from clinical practice. *New Microbiol.* 2018; 41 (3): 203–207. PMID: 29874388.

10. Pfützner H., Sachse K. *Mycoplasma bovis* as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders in cattle. *Rev. Sci. Tech.* 1996; 15 (4): 1477–1494. DOI: 10.20506/rst.15.4.987.

11. Poumarat F., Longchambon D., Martel J. L. Application of dot immunobinding on membrane filtration (MF dot) to the study of relationships within “*M. mycoides* cluster” and within “glucose and arginine-negative cluster” of ruminant mycoplasmas. *Vet. Microbiol.* 1992; 32 (3–4): 375–90. DOI: 10.1016/0378-1135(92)90159-q.

12. Nicholas R., Baker S. Recovery of mycoplasmas from animals. *Methods Mol. Biol.* 1998; 104: 37–43. DOI: 10.1385/0-89603-525-5:37.

13. Hwang M. H., Damte D., Cho M. H., Kim Y. H., Park S. C. Optimization of culture media of pathogenic *Mycoplasma hyopneumoniae* by a response surface methodology. *J. Vet. Sci.* 2010; 11 (4): 327–332. DOI: 10.4142/jvs.2010.11.4.327.

14. Duta F. P., De França F. P., Sérvulo E. F. C., De Almeida Lopes L. M., Da Costa A. C. A., Barros A. Effect of process parameters on production of a biopolymer by *Rhizobium* sp. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2004; 114: 639–652. DOI: 10.1385/abab:114:1-3:639.

15. Assunção P., Rosales R. S., Rifatbegović M., Antunes N. T., de la Fe C., Ruiz de Galarreta C. M., Poveda J. B. Quantification of mycoplasmas in broth medium with sybr green-I and flow cytometry. *Front. Biosci.* 2006; 11: 492–497. DOI: 10.2741/1812.

16. Hayflick L. Tissue cultures and mycoplasmas. *Tex. Rep. Biol. Med.* 1965; 23: Suppl 1:285–303. PMID: 5833547.

17. García-Morante B., Dors A., León-Kempis R., Pérez de Rozas A., Segalés J., Sibila M. Assessment of the *in vitro* growing dynamics and kinetics of the non-pathogenic J and pathogenic 11 and 232 *Mycoplasma hyopneumoniae* strains. *Vet. Res.* 2018; 49 (1):45. DOI: 10.1186/s13567-018-0541-y.

18. Friis N. F. Some recommendations concerning primary isolation of *Mycoplasma suis pneumoniae* and *Mycoplasma flocculare* a survey. *Nord. Vet. Med.* 1975; 27 (6): 337–339. PMID: 1098011.

19. Poveda J. B., Nicholas R. Serological identification of mycoplasmas by growth and metabolic inhibition tests. *Methods Mol. Biol.* 1998; 104: 105–111. DOI: 10.1385/0-89603-525-5:105.

20. Calus D., Maes D., Vranckx K., Villareal I., Pasmans F., Haesebrouck F. Validation of ATP luminometry for rapid and accurate titration of *Mycoplasma hyopneumoniae* in Friis medium and a comparison with the color changing units assay. *J. Microbiol. Methods*. 2010; 83 (3): 335–340. DOI: 10.1016/j.mimet.2010.09.001.

21. Jiang Z., Li S., Zhu C., Zhou R., Leung P. H. M. *Mycoplasma pneumoniae* infections: Pathogenesis and vaccine development. *Pathogens*. 2021; 10 (2):119. DOI: 10.3390/pathogens10020119.

22. Stemke G. W., Robertson J. A. The growth response of *Mycoplasma hyopneumoniae* and *Mycoplasma flocculare* based upon ATP-dependent luminometry. *Vet. Microbiol.* 1990; 24 (2): 135–142. DOI: 10.1016/0378-1135(90)90061-y.

23. Cook B. S., Beddow J. G., Manso-Silvón L., Maglennon G. A., Rycroft A. N. Selective medium for culture of *Mycoplasma hyopneumoniae*. *Vet. Microbiol.* 2016; 195: 158–164. DOI: 10.1016/j.vetmic.2016.09.022.

24. Friis N. F., Szancer J. Sensitivity of certain porcine and bovine mycoplasmas to antimicrobial agents in a liquid medium test compared to a disc assay. *Acta Vet. Scand.* 1994; 35 (4): 389–394. DOI: 10.1186/BF03548313.

Поступила в редакцию / Received 18.05.2022

Поступила после рецензирования / Revised 23.06.2022

Принята к публикации / Accepted 15.07.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

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

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

Шумилова Ирина Николаевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Брянцева Мария Сергеевна, ведущий биолог лаборатории профилактики болезней свиней и рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

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

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

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

Irina N. Shumilova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI “ARRIAH”, Vladimir, Russia.

Maria S. Bryantseva, Leading Biologist, Laboratory for Porcine and Horned Livestock Prevention, FGBI “ARRIAH”, Vladimir, Russia.

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



Опыт длительного хранения референтного штамма С-141 возбудителя мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*)

Е. А. Артемьева¹, Л. А. Мельникова², А. П. Родионов³

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), г. Казань, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-6204-6077>, e-mail: artemevalena21@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-0159-3843>, e-mail: vnivi@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-0853-5678>, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Мелиоидоз — особо опасное инфекционное заболевание, вызываемое бактериями *Burkholderia pseudomallei*, относящимися к II группе патогенности, против которого не разработаны специфические средства профилактики и лечения. Мелиоидозом болеют как люди, так и животные. Ранее заболевание было распространено в районах Юго-Восточной Азии, в настоящее время регистрируется почти на всех континентах земного шара. Потенциальная возможность завоза возбудителя мелиоидоза на территорию Российской Федерации, а также опасность преднамеренного применения его в качестве средства биологического терроризма диктует необходимость содержания данного патогена в коллекциях микроорганизмов для проведения исследований по изучению его основных свойств, разработке и испытанию средств диагностики, индикации и идентификации. Лаборатория коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» осуществляет хранение и поддержание референтного штамма С-141 *Burkholderia pseudomallei*, полученного из ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (г. Саратов) в 1983 г., для проведения научно-исследовательских работ, а также в качестве дублирующего штамма в случае утраты его в других коллекциях. Целью работы являлось изучение сохранности биологических свойств штамма С-141 *Burkholderia pseudomallei* после 11 лет хранения в лиофилизированном виде. Установлено, что при оптимальных условиях хранения (температура от 4 до 8 °С, криопротектор — обезжиренное молоко) штамм сохранял свою жизнеспособность и биологические свойства в течение всего срока наблюдения. Штамм С-141 обладал сахаролитической, оксидазной, каталазной и протеолитической активностью, сероводород не образовывал, что соответствует биохимическим признакам возбудителя мелиоидоза. Проведено освежение штамма путем пассажа через организм золотистых хомячков, выделена культура буркхольдерий, которая была лиофилизована. Лيوфилизированный штамм С-141 *Burkholderia pseudomallei* был проверен по показателям качества, на него оформлен паспорт, штамм заложен на хранение.

Ключевые слова: особо опасные болезни, мелиоидоз, штамм, хранение, пассаж, лиофилизация

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Коллекционирование, поддержание, пополнение и хранение штаммов возбудителей особо опасных болезней (ООБ), организация их учета, проведение исследований по изучению биологических свойств и обеспечения предприятий агропромышленного комплекса штаммами возбудителей ООБ».

Для цитирования: Артемьева Е. А., Мельникова Л. А., Родионов А. П. Опыт длительного хранения референтного штамма С-141 возбудителя мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*). *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 268–272. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-268-272.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Для корреспонденции: Родионов Александр Павлович, младший научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок-2, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com.

Long-term storage of C-141 reference strain of melioidosis agent (*Burkholderia pseudomallei*)

Е. А. Artemeva¹, L. A. Melnikova², A. P. Rodionov³

Federal State Budgetary Scientific Institution "Federal Center for Toxicological, Radiation, and Biological Safety" (FSBSI "FCTRBS-ARRVI"), Kazan, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-6204-6077>, e-mail: artemevalena21@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-0159-3843>, e-mail: vnivi@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-0853-5678>, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com

SUMMARY

Melioidosis is a highly dangerous infectious disease caused by Hazard Group II bacteria *Burkholderia pseudomallei*, against which specific prevention and treatment tools have not been developed yet. Both humans and animals suffer from the disease. Previously the disease was prevalent in Southeast Asia regions, but currently is reported almost in all continents of the globe. Potential possibility of the agent introduction to the Russian Federation as well as the risk of malevolent use of this agent as a tool of bioterrorism dictates the need for storage of this pathogen in the microorganism collections to study its properties, develop and test diagnostic, detection and identification means. Microorganism Collection Laboratory of the FSBSI "FCTRBS-ARRVI" is responsible for storage and preservation of *Burkholderia*

pseudomallei C-141 reference strain, submitted by Federal State Scientific Institution "Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe" under the Rospotrebnadzor (Saratov city) for research purposes in 1983 and as a back-up strain in case of its loss by other collections. The purpose of the work was to study the preservation of biological properties of freeze-dried *Burkholderia pseudomallei* C-141 strain after 11 years of storage. It was established that under optimal storage conditions (temperature of 4–8 °C, skimmed milk as a cryoprotectant) the strain remained viable and retained its biological properties during the whole observation period. C-141 strain showed saccharolytic, oxidase, catalase and proteolytic activities, did not generate hydrogen sulphide, which is consistent with the melioidosis agent biochemical features. The strain was refreshed by passaging in golden hamsters and *Burkholderia* culture was isolated and freeze-dried. *Burkholderia pseudomallei* C-141 freeze-dried strain was tested for quality parameters, records were made and the strain was deposited.

Keywords: particularly dangerous diseases, melioidosis, strain, storage, passage, lyophilization

Acknowledgements: The work was carried out using the funds of the FSBSI "FCTBBS-ARRVI" within the research "Collecting, maintaining, replenishing and storing strains of highly dangerous diseases (HDD), keeping records of them, studying their biological properties and providing agro-industry companies with HDD strains".

For citation: Artemeva E. A., Melnikova L. A., Rodionov A. P. Long-term storage of C-141 reference strain of melioidosis agent (*Burkholderia pseudomallei*). *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 268–272. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-268-272.

Conflict of interests: The authors declare that there is no conflict of financial/non-financial interests associated with the paper.

For correspondence: Alexander. P. Rodionov, Junior Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTBBS-ARRVI", 420075, Russia, Republic of Tatarstan, Kazan, Nauchny Gorodok-2, e-mail: alexandrvtspets@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Хранение и поддержание штаммов микроорганизмов осуществляется в государственных и национальных коллекциях, существующих на базе научно-исследовательских учреждений. Фонды коллекций насчитывают от сотни до тысячи и более единиц хранения. Они формируются за счет поступления штаммов микроорганизмов из организаций, ведущих деятельность в области биологической защиты, ветеринарных, медицинских, фитосанитарных и иных учреждений, выполняющих микробиологические исследования [1, 2]. Основной задачей коллекций микроорганизмов является поддержание фонда культур в условиях, исключающих их утрату, изменение или потерю морфологических, биохимических, серологических и токсических свойств, а также чувствительности к антибиотикам при длительном хранении [3, 4]. В коллекциях они представлены резервными, музейными, эпизоотическими, референтными, эталонными и производственными штаммами и являются национальным достоянием страны, обеспечивающим ее биологическую и продовольственную безопасность [5]. Штаммы микроорганизмов, хранящиеся в коллекциях, необходимы для проведения фундаментальных и прикладных научных исследований, разработки лечебных, диагностических и профилактических препаратов, а также для создания современных индикационных систем, иммунобиологических препаратов и лекарственных средств против инфекционных болезней, регистрирующихся на территории Российской Федерации (сибирская язва, бруцеллез и др.), а также против заболеваний, имеющих потенциальную вероятность заноса в страну из неблагоприятных регионов [6]. Представителем последней категории инфекций является особо опасное заболевание мелиоидоз, которое повсеместно распространено на территории Юго-Восточной Азии, эндемичной по данному заболеванию [7]. В связи с этим нельзя исключать угрозы завоза данного зооноза на территорию нашей страны, а также опасности диверсионных действий с применением *Burkholderia pseudomallei* в качестве агента биологического терроризма. Это создает необходимость хранения штаммов данного микроорганизма в коллекциях, поддержания и изучения биологических свойств возбудителя [8]. Лаборатория коллекции штам-

мов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» выполняет работу по ведению фонда штаммов *B. pseudomallei* как потенциально опасного биологического агента.

Целью данного исследования явилось изучение сохранности биологических свойств штамма C-141 *B. pseudomallei* после 11 лет хранения в лиофилизированном виде.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биологическая безопасность. Работа проведена в лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в соответствии с СанПиН 3.3686-21¹.

Штаммы. Для работы взят референтный штамм C-141 *B. pseudomallei* (выделен из крови больного в 1948 г. в г. Сайгоне), полученный в лиофилизированном виде в установленном порядке из ФКУН Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (г. Саратов) в 1983 г.

Питательные среды. Для восстановления лиофилизированной культуры исследуемого штамма и изучения сохранности его морфологических свойств использовали мясо-пептонный глицериновый агар (МПАГ) и мясо-пептонный глицериновый бульон (МПГБ).

Для определения образования сероводорода использовали МПГБ с 4% глицерина, при изучении каталязы активности – МПАГ с 4% глицерина. Вышеперечисленные питательные среды произведены в ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Определение биохимических свойств проводили на средах Гисса (АО «НПО «Микроген», Россия).

Лабораторные животные. Для проведения пассажа исследуемого штамма использовали 5 голов золотистых хомячков. Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации,

¹ СанПиН 3.3686-21 Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных заболеваний: утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2121 № 4. Режим доступа: http://vnipchi.rospotrebнадзора.ru/s/203/files/ND/safety/95493_64.pdf.

а также согласно требованиям Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123, г. Страсбург, 18.03.1986).

Оборудование. Лиофилизацию культуры проводили на установке LZ-9.2 (Frigera, Чехия).

Методы исследований. Определив жизнеспособность штамма и получив посредством пересевов культуру второй генерации, изучали ее биологические свойства на соответствие паспортным данным согласно МУ 4.2.2787-10 «Лабораторная диагностика мелиоидоза» [9]. Для изучения культуральных признаков проводили посев штамма на МПГА и МПГБ. Тинкториально-морфологические свойства определяли посредством микроскопии препаратов, приготовленных из 2-суточной культуры, фиксированных в смеси Никифорова и окрашенных по Граму. Подвижность бактериальных клеток устанавливали при микроскопическом исследовании нативных препаратов, приготовленных методом висячей капли. Образование сахаролитических ферментов определяли на средах Гисса. Протеолитические свойства проверяли путем посева культуры уколом бактериологической петли в 12%-й желатин, а также вносили 2–3 капли культуры в физиологическом растворе в обезжиренное молоко, учет результатов проводили в течение 3 дней. Образование сероводорода определяли на МПГБ с помещенной в пробирку индикаторной бумагой, пропитанной ацетатом свинца. Оксидазную активность изучали посредством нанесения на поверхность выращенной на МПГА культуры 1%-го раствора перекиси водорода. Окончательный учет результатов проводили на 7–10-й день.

После проверки основных свойств штамма C-141 *B. pseudomallei* проводили пассаж через организм золотистых хомячков путем подкожного введения суспензии 2-суточной агаровой культуры. Наблюдение за животными вели в течение 5–6 дней. Павших особей вскрывали и осуществляли бактериологические посевы из печени, селезенки, легких, места введения, крови из сердца на МПГА и МПГБ, которые культивировали при 37 °C в течение 3–4 сут [10].

Чистую культуру штамма C-141 *B. pseudomallei* лиофилизировали, используя в качестве криопротектора обезжиренное молоко. Режим сублимационной сушки был рассчитан для данного вида возбудителя.

Лиофилизированную культуру проверяли на жизнеспособность, изучали основные свойства, используя полученные данные, оформляли паспорт на штамм, заполняли формы учета, по окончании этих работ ампулы со штаммом заложили на хранение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Пополнение фонда лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» штаммом C-141 *B. pseudomallei* было продиктовано необходимостью разработки методов дифференциальной диагностики сапа и мелиоидоза, так как возбудители этих особо опасных инфекционных заболеваний близкородственны в антигенном отношении. Кроме того, данный штамм помещен в коллекцию в качестве дублирующего на случай его утраты в других коллекциях. В течение 38 лет штамм хранится в нативном виде на МПГА (рабочие культуры) и лиофилизированном виде с периодическим контролем жизнеспособности и сохранности биологических свойств. Культура штамма,

хранящаяся в нативном виде, пересеивается на МПГА каждые 3 месяца и один раз в год проверяется по основным свойствам. Лиофилизированные культуры проверяются один раз в 5 лет.

В настоящее время хранение штамма C-141 *B. pseudomallei* в коллекции и проводимая с ним работа продиктованы происходящей глобализацией во всех сферах деятельности человека, развитием туризма, особенно в зонах с тропическим климатом, международными связями в области торговли, спорта и т. д., создающими риск заноса экзотических и не регистрирующихся на территории нашего государства инфекций, включая мелиоидоз. Являясь агентом бактериологического оружия, *B. pseudomallei* создает потенциальную угрозу преднамеренного ее применения как средства биологического терроризма. Постановлением Правительства РФ от 1 декабря 2004 г. № 715 «Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих»² мелиоидоз включен в перечень социально значимых заболеваний, представляющих опасность для окружающих.

На первом этапе работы изучали культуральные свойства штамма C-141 *B. pseudomallei*, хранящегося в течение 11 лет в лиофилизированном виде. На МПГА через 24 ч культивирования при температуре 37 °C выросли мелкие, полупрозрачные, выпуклые колонии сероватого цвета с ровными краями и гладкой поверхностью (рис. А). Через 48–72 ч инкубации появлялись признаки диссоциации культуры: одни колонии были прозрачными, другие – со складчатой поверхностью (рис. В). На МПГБ через сутки регистрировали рост в виде легкого помутнения, в последующие дни мутность усиливалась, образовывался осадок и поверхностная пленка, которая спустя 4–5 сут становилась складчатой, меняя цвет с серо-желтого на коричневый.

При микроскопии мазков-препаратов, приготовленных из 2-суточной агаровой культуры штамма, фиксированных в смеси Никифорова и окрашенных по Граму, в поле зрения наблюдали мелкие, грамотрицательные, располагающиеся одиночно, попарно и короткими цепочками клетки с характерным биполярным окрашиванием (рис. С). При просмотре под микроскопом препарата «висячая капля», изготовленного из культуры буркгольдерий, регистрировали прямолинейное движение бактерий.

Исследование биохимических свойств штамма C-141 *B. pseudomallei* показало, что он обладал сахаролитической активностью: окислял глюкозу с изменением цвета индикатора и питательной среды. При посеве на МПГБ образования сероводорода не происходило: индикаторная бумага, пропитанная уксуснокислым свинцом, не окрасилась в черный цвет. Штамм обладал оксидазной, каталазной (при нанесении 1 мл 1%-го раствора перекиси водорода на культуру буркгольдерий, выросшую на МПГА, появились пузырьки газа) и протеолитической (свертывал и пептонизировал молоко, разжижал 12%-й желатин) активностью (табл.).

Результаты исследования показали, что биохимические свойства штамма C-141 соответствуют видовым признакам *B. pseudomallei*, указанным в определителе бактерий Берджи [11]. Данный факт позволяет конста-

² Об утверждении перечня социально значимых заболеваний и перечня заболеваний, представляющих опасность для окружающих: утв. постановлением Правительства РФ от 01.12.2004 № 715. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/901916651>.

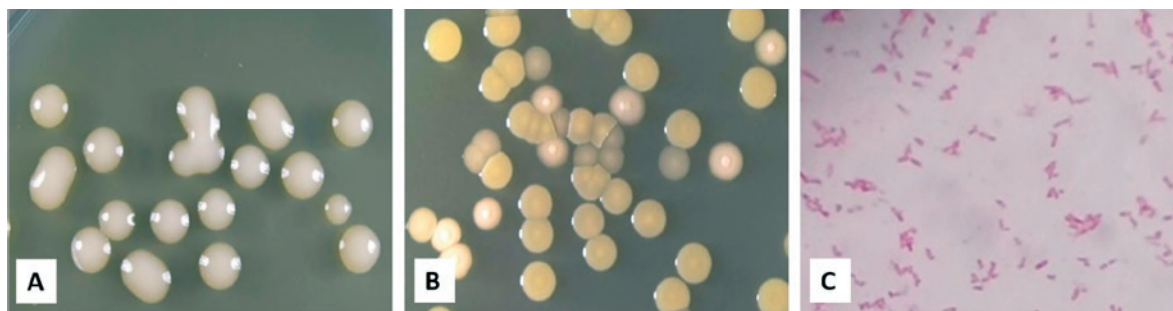


Рис. Культурально-морфологические свойства штамма C-141 *B. pseudomallei*: А – суточная культура, выращенная на МПГА; В – диссоциация культуры через 48–72 ч инкубации; С – мазок исследуемой культуры, окрашенный по Граму

Fig. Cultural and morphological properties of *B. pseudomallei* C-141 strain: А – day-old culture, grown on meat peptone agar; В – dissociated culture in 48–72 hours of incubation; С – Gram stained smear of the tested culture

тировать, что создание оптимальных условий хранения штамма и работа, проводимая с ним в течение 38 лет, способствовали сохранности его жизнеспособности без утраты биологических свойств.

Для стабильности основных свойств при длительном хранении штаммов требуется проведение их через организм чувствительных моделей [12]. Для возбудителя мелиоидоза такими моделями являются золотистые хомячки, белые мыши и морские свинки. В данной работе были использованы золотистые хомячки. Болезнь у этих животных протекает в острой форме, гибель наступает в течение 3–5 сут в зависимости от штамма и вводимой дозы, к тому же они удобны в содержании и уходе. Пассажи штамма C-141 *B. pseudomallei* проводили путем подкожного введения золотистым хомячкам живой культуры в дозе 10^9 живых микробных клеток в 1 см^3 , суспензированной в физиологическом растворе, с последующим наблюдением за их состоянием. У животных регистрировали угнетенное состояние, вялость, отказ от корма, гибель на 4–6-е сут. При патолого-анатомическом вскрытии на печени, селезенке, легких обнаружены некротические узелки диаметром до 2–3 мм. При бактериологическом исследовании проб внутренних органов и крови из сердца выделена культура с характерными для *B. pseudomallei* биологическими свойствами.

Первостепенной задачей коллекций микроорганизмов является сохранение штаммов в неизменном состоянии в течение длительного времени. При этом чаще всего применяют метод сублимации [13]. Выделенную культуру штамма C-141 *B. pseudomallei* лиофилизировали для обеспечения сохранности основных свойств в течение длительного времени. В качестве криопротектора использовали обезжиренное молоко, которое эффективно используют при сублимационном высушивании штаммов возбудителя сапа [14].

Лиофилизацию проводили по ранее отработанному режиму:

1. Замораживание материала в течение 18 ч до минус 40°C в морозильной камере.
2. Перенос материала в лиофильную установку, охлаждение плиты до минус 52°C .
3. Включение вакуума.
4. Лиофилизация в автоматическом режиме в течение 12 ч.
5. Включение обогрева (р) через 17 ч с момента загрузки материала при следующих параметрах: температура плиты 10°C , температура среды 0°C .

6. Включение обогрева (р + 1) через 18 ч при следующих параметрах: температура плиты 20°C , температура среды 5°C , вакуум 0,5 trr.

7. Часовой диапазон 24 ч: температура плиты 32°C , температура среды 25°C , вакуум 0,05 trr.

Процесс сушки завершали при относительной влажности материала в пределах от 2 до 3,5% [15]. Проверка штамма C-141 *B. pseudomallei* после лиофилизации показала его жизнеспособность и сохранность основных свойств.

После освежения штамма путем пассирования через организм чувствительных моделей, лиофилизации и контроля показателей качества в соответствии с СанПиН 3.3686-21 был оформлен паспорт и внесены соответствующие записи в форму учета № 517/у «Карта индивидуального учета коллекционного патогенного биологического агента», после чего штамм был заложен на хранение.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что при оптимальных условиях хранения (температура от 4 до 8°C , криопротектор – обезжиренное молоко) лиофилизированный штамм C-141 *B. pseudomallei* сохранял свою жизнеспособность и биологические свойства в течение 11 лет хранения (срок наблюдения). Штамм обладал сахаролитической, оксидазной, каталазной и протеолитической активностью, сероводород не образовывал, что соответствует биохимическим признакам вида *B. pseudomallei*.

Таблица
Биохимические свойства штамма C-141 *B. pseudomallei*

Table
C-141 *B. pseudomallei* biochemical properties

№ п/п	Показатель	Значение показателя для исследуемого штамма	Значение показателя по определителю Берджи
1	Окисление глюкозы	+	+
2	Образование сероводорода	–	–
3	Оксидазная активность	+	+
4	Свертывание молока	+	+
5	Разжижение 12%-го желатина	+	+

Освежение штамма путем пассажа через организм чувствительных моделей (золотистых хомячков) и консервация методом лиофилизации обеспечат поддержание его в рабочем состоянии и сохранность основных свойств в течение длительного периода времени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Онищенко Г. Г., Кутырев В. В., Топорков А. В., Осин А. В. Современное состояние коллекционной деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2010; 1 (103): 5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-1(103)-5-10.
- Дятлов И. А. Коллекции патогенных микроорганизмов – значение и проблемы. *Бактериология*. 2018; 3 (1): 5–6. eLIBRARY ID: 35598142.
- Артемова Е. А., Мельникова Л. А., Родионов А. П. Особенности подготовки и выдачи производственного штамма 5584 *Burkholderia mallei* в соответствии с требованиями биологической безопасности. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 243–247. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-243-247.
- Мельникова Л. А., Иванова С. В., Галиуллин А. К., Макаев Х. Н. Определение жизнеспособности и сохранность биологических свойств штаммов возбудителя сапа при длительном хранении. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2018; 234 (2): 137–141. eLIBRARY ID: 35094225.
- Озерская С. М., Кочкина Г. А., Иванушкина Н. Е., Запрометова К. М., Еремина С. С., Князева Е. В. Состояние коллекций микроорганизмов в России. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю. А. Овчинникова*. 2006; 2 (3): 51–61. eLIBRARY ID: 12830842.
- Молчанова Е. В., Лопастейская Я. А., Незнамова А. В., Кузютина Ю. А., Агеева Н. П., Захарова И. Б. и др. Особенности идентификации *Burkholderia mallei* и *Burkholderia pseudomallei* с помощью микробиологического анализатора Vitek 2 Compact 30. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2016; 3: 57–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-57-61.
- Захарова И. Б., Топорков А. В., Виктор Д. В. Мелиоидоз и сап: современное состояние проблемы и актуальные вопросы эпидемиологического надзора. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 6: 103–109. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-103-109.
- Онищенко Г. Г., Пальцев М. А., Зверев В. В., Иванов А. А., Киселев В. И., Нетесов С. В. и др. Биологическая безопасность. М.: Медицина; 2006. 304 с.
- МУ 4.2.2787-10 Лабораторная диагностика мелиоидоза: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2011. 32 с. Режим доступа: <https://base.garant.ru/70519336>.
- Ряпис Л. А., Илюхин В. И., Сенина Т. В., Шубникова Е. В., Будченко А. А., Куликова А. С. Сравнительная характеристика бурхольдерий группы *pseudomallei*. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 1: 3–8. eLIBRARY ID: 19052685.
- Краткий определитель бактерий Берги. Под ред. Дж. Хоулта. М.: Мир; 1980. 495 с.
- Охупкина В. Ю., Пяткова Н. В., Барамзина Г. В., Фоменков О. О., Федотов А. К. Опыт длительного хранения штаммов возбудителя туляремии. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2018; 4: 69–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-69-74.
- Похиленко В. Д., Баранов А. М., Детушев К. В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки*. 2009; 4 (12): 99–121. Режим доступа: [https://izvuz_mn.pnzgu.ru/files/izvuz_mn.pnzgu.ru/13409.pdf](https://izvuz_mn.pnzgu.ru/files/izvuz_mn.pnzgu.ru/files/izvuz_mn.pnzgu.ru/13409.pdf).
- Ветеринарные препараты: справочник. Под ред. Д. Ф. Осидзе. М.: Колос; 1981. 448 с.
- Мельникова Л. А., Иванова С. В., Макаев Х. Н., Букова Н. К. Влияние сред высушивания на устойчивость возбудителя сапа в процессе

лиофилизации и дальнейшем хранении. *Ветеринарный врач*. 2017; 3: 17–20. eLIBRARY ID: 29331324.

REFERENCES

- Onishenko G. G., Kutayev V. V., Toporkov A. V., Ossin A. V. Current state of collection activity relative to the use of infectious agents of I–II pathogenicity groups. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2010; 1 (103): 5–10. DOI: 10.21055/0370-1069-2010-1(103)-5-10. (in Russ.)
- Dyatlov I. A. Problems of pathogenic microorganisms collections. *Bacteriology*. 2018; 3 (1): 5–6. eLIBRARY ID: 35598142. (in Russ.)
- Artemeva E. A., Melnikova L. A., Rodionov A. P. Preparation and transfer of *Burkholderia mallei* production strain 5584 in accordance with the biosafety requirements. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 243–247. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-243-247.
- Melnikova L. A., Ivanova S. V., Galiullin A. K., Makaev Kh. N. The determination of the viability and safety of biological properties of strains of the glanders agent during long-term storage. *Scientific Notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2018; 234 (2): 137–141. eLIBRARY ID: 35094225. (in Russ.)
- Ozerskaja S. M., Kochkina G. A., Ivanushkina N. E., Zaprometova K. M., Eremina S. S., Knyazeva E. V. The state of collections of microorganisms in Russia. *Ovchinnikov Bulletin of Biotechnology and Physical and Chemical Biology*. 2006; 2 (3): 51–61. eLIBRARY ID: 12830842. (in Russ.)
- Molchanova E. V., Lopasteiskaya Ya. A., Neznamova A. V., Kuzyutina Yu. A., Ageeva N. P., Zakharova I. B., et al. Peculiarities of *Burkholderia mallei* and *Burkholderia pseudomallei* identification using microbiological analyzer Vitek 2 Compact 30. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016; 3: 57–61. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-3-57-61. (in Russ.)
- Zakharova I. B., Toporkov A. V., Viktorov D. V. Melioidosis and glanders: current state and actual issues of epidemiological surveillance. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018; 6: 103–109. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-103-109. (in Russ.)
- Onishchenko G. G., Pal'tsev M. A., Zverev V. V., Ivanov A. A., Kiselev V. I., Netesov S. V., et al. Biological Safety. Moscow: Meditsina; 2006. 304 p. (in Russ.)
- MU 4.2.2787-10 Laboratory diagnosis of melioidosis: guidelines. M.: Federal Centre of Hygiene and Epidemiology of the Rosпотребнадзор, 2011. 32 p. Available at: <https://base.garant.ru/70519336>. (in Russ.)
- Ryapis L. A., Ilyukhin V. I., Senina T. V., Shubnikova E. V., Budchenko A. A., Kulikova A. S. Comparative characteristic of *Burkholderia pseudomallei* group. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2013; 1: 3–8. eLIBRARY ID: 19052685. (in Russ.)
- The Shorter Bergey's Manual of Determinative bacteriology. Ed. by J. G. Holt. 8th ed. Baltimore: The William & Wilkins Co.; 1977. 356 p.
- Okhapkina V. Yu., Pyatkova N. V., Baramzina G. V., Fomenkov O. O., Fedotov A. K. Long-term storage of tularemia agent strains. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2018; 4: 69–74. DOI: 10.21055/0370-1069-2018-4-69-74. (in Russ.)
- Pokhilenko V. D., Baranov A. M., Detushev K. V. Metody dlitel'nogo hranenija kollekcionnyh kul'tur mikroorganizmov i tendencii razvitiya = Methods of long-term storage of collection microorganism cultures and development trends. *University proceedings. Volga region. Medical sciences*. 2009; 4 (12): 99–121. Available at: https://izvuz_mn.pnzgu.ru/files/izvuz_mn.pnzgu.ru/13409.pdf. (in Russ.)
- Veterinary medicinal products: Formulary. Ed by D. F. Osidze. Moscow: Kolos; 1981. 448 p. (in Russ.)
- Melnikova L. A., Ivanova S. V., Makaev Kh. N., Bukova N. K. The influence of media on drying stability of the causative agent of glanders in the process of lyophilization and subsequent storage. *Veterinarian*. 2017; 3: 17–20. eLIBRARY ID: 29331324. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 25.03.2022

Поступила после рецензирования / Revised 13.05.2022

Принята к публикации / Accepted 20.06.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Артемова Елена Александровна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Мельникова Лилия Арсентьевна, кандидат ветеринарных наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Родионов Александр Павлович, младший научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Elena A. Artemeva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.

Lilia A. Melnikova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.

Alexander P. Rodionov, Junior Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia.



Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов, специфичных к *Bordetella bronchiseptica*

Т. А. Кочетова¹, В. В. Юскевич², Г. Т. Садикова³, В. М. Попова⁴

ООО Научно-производственный центр «МикроМир» (ООО НПЦ «МикроМир»), г. Москва, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0001-8280-4341>, e-mail: kochetova@micromir.bio

² <https://orcid.org/0000-0002-0459-7479>, e-mail: v.yuskevich@micromir.bio

³ <https://orcid.org/0000-0002-7711-7958>, e-mail: gulnurs.5959@gmail.com

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-9630-1945>, e-mail: popovavm9@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты собственных исследований по выделению бактериофагов, активных в отношении *Bordetella bronchiseptica*. Из клинического материала от животных с признаками респираторных заболеваний выделено три новых бактериофага: vB_BbrS_2/200220.7.2, vB_BbrS_4/200220.7.1, vB_BbrM_5/200220.7.2. Подробно описана методика выделения бактериофагов и их основные биологические свойства. Литическая активность выделенных бактериофагов, определяемая методом агаровых слоев, варьировала от $(2,3 \pm 1,4) \times 10^8$ до $(9,0 \pm 0,2) \times 10^8$ БОЕ/мл, а спектр литического действия составил от 61,5 до 76,9%. Показана стабильность титра бактериофагов при хранении фаголизата в течение 8 месяцев без добавления консерванта. Морфологию негативных колоний бактериофагов изучали на различных питательных средах и анализировали по двум признакам: размер и прозрачность. На средах наблюдалась диссоциация негативных колоний на прозрачные, мутные и прозрачные с мутными ореолами. Бляшки также различались по размеру: от $0,6 \pm 0,2$ до $2,6 \pm 0,1$ мм. Отмечены высокие показатели температурной устойчивости при воздействии на бактериофаги высокой температуры от +40 до +95 °C с шаговым интервалом 5 °C. Изучение специфичности показало, что выделенные бактериофаги лизируют близкородственные бактерии. В ходе электронно-микроскопических исследований для каждого бактериофага были определены такие параметры, как среднее значение диаметра головки и среднее значение длины хвоста. В соответствии с международной номенклатурой вирусов, по морфологическим параметрам фаги vB_BbrS_2/200220.7.2 и vB_BbrS_4/200220.7.1 отнесены к семейству Siphoviridae, бактериофаг vB_BbrM_5/200220.7.2 – к семейству Myoviridae. Полученные результаты исследований *in vitro* показали, что выделенные бактериофаги могут быть перспективными для применения в ветеринарной медицине в фаготерапии заболеваний, вызванных бактерией *Bordetella bronchiseptica*.

Ключевые слова: бактериофаги, *Bordetella bronchiseptica*, фаготерапия, фагопрофилактика

Для цитирования: Кочетова Т. А., Юскевич В. В., Садикова Г. Т., Попова В. М. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов, специфичных к *Bordetella bronchiseptica*. Ветеринария сегодня. 2022; 11 (3): 273–279. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-273-279.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Кочетова Татьяна Андреевна, научный сотрудник ООО НПЦ «МикроМир», 107031, Россия, г. Москва, Нижний Кисельный пер., д. 5/23, стр. 1, e-mail: kochetova@micromir.bio.

Isolation and study of biological properties of *Bordetella bronchiseptica*-specific bacteriophages

T. A. Kochetova¹, V. V. Yuskevich², G. T. Sadykova³, V. M. Popova⁴

Research and Production Center "MicroMir" LLC, Moscow, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0001-8280-4341>, e-mail: kochetova@micromir.bio

² <https://orcid.org/0000-0002-0459-7479>, e-mail: v.yuskevich@micromir.bio

³ <https://orcid.org/0000-0002-7711-7958>, e-mail: gulnurs.5959@gmail.com

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-9630-1945>, e-mail: popovavm9@yandex.ru

SUMMARY

The paper presents results of our studies on isolation of bacteriophages active against *Bordetella bronchiseptica*. Three new bacteriophages were recovered from clinical material of animals with respiratory disease signs: vB_BbrS_2/200220.7.2, vB_BbrS_4/200220.7.1, vB_BbrM_5/200220.7.2. The lytic activity of isolated bacteriophages determined by the method of agar layers varied from $(2.3 \pm 1.4) \times 10^8$ to $(9.0 \pm 0.2) \times 10^8$ BOE/ml, and the lytic spectrum ranged from 61.5 to 76.9%. The bacteriophage titer stability was shown during 8-month storage of phage lysate with no preservative added. The morphology of bacteriophage negative colonies was tested in various nutrient media and analyzed based on two parameters: size and transparency. Dissociation of negative colonies into clear colonies, cloudy colonies, and clear colonies with cloudy halos was observed in the media. Plaques also varied in size from 0.6 ± 0.2 to 2.6 ± 0.1 mm. High levels of temperature stability were noted during exposure of bacteriophages to high temperatures ranging from +40 to +95 °C in 5 °C step. The study of specificity showed

that the isolated bacteriophages lyse closely-related bacteria. In the course of electron microscopic testing of each bacteriophage such parameters as the average diameter of the head and the average length of the tail were determined. In accordance with the international classification of viruses by morphological characteristics the vB_BbrS_2/200220.7.2 and vB_BbrS_4/200220.7.1 phages have been assigned to the family Siphoviridae, vB_BbrM_5/200220.7.2 bacteriophage has been assigned to the family Myoviridae. The obtained results of *in vitro* studies have shown that the isolated bacteriophages can be prespective in veterinary use for phage therapy of *Bordetella bronchiseptica*-induced diseases.

Keywords: bacteriophages, *Bordetella bronchiseptica*, phage therapy, phage prophylaxis

For citation: Kochetova T. A., Yuskevich V. V., Sadykova G. T., Popova V. M. Isolation and study of biological properties of *Bordetella bronchiseptica*-specific bacteriophages. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 273–279. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-273–279.

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

For correspondence: Tatiana A. Kochetova, Researcher, Research and Production Center “MicroMir” LLC, 107031, Russia, Moscow, Nizhnii Kisel’nyi pereulok, d. 5/23, str. 1, e-mail: kochetova@micromir.bio.

ВВЕДЕНИЕ

Bordetella bronchiseptica – аэробная грамотрицательная подвижная палочка. Вызывает респираторные заболевания у большинства домашних (свиньи, кролики, кошки, собаки) и диких животных всех возрастов, однако наиболее подвержены риску инфицирования молодые особи до года и животные с хроническими заболеваниями [1–3]. Бактерия размножается среди ресничек эпителия дыхательного тракта, заражение происходит воздушно-капельным путем, инкубационный период длится от 5 до 20 сут [2, 4].

Респираторная инфекция (бордетеллез), вызванная *B. bronchiseptica*, развивается достаточно быстро, вызывая инфекционный трахеобронхит у собак, широко известный как «питомниковый кашель», пневмонии, риниты у кошек и кроликов [3, 5, 6]. В некоторых случаях болезнь может активно прогрессировать до бронхопневмонии и привести к смерти [1, 7, 8]. *B. bronchiseptica* является причиной атрофического ринита и бронхопневмонии у свиней. У животных происходит атрофия носовой перегородки и носовой раковины [3, 4, 9, 10]. Зафиксированы случаи инфицирования людей бактериями *B. bronchiseptica* [2, 3, 5, 6, 11–14]. Заболеванию в основном подвержены дети, лица с хроническими заболеваниями и ослабленным иммунитетом. Заражение происходит в процессе непосредственного контакта с больными животными, не исключается вероятность перекрестного заражения между людьми [5, 6, 11–14].

На сегодняшний день основными средствами лечения бордетеллеза домашних и сельскохозяйственных животных являются антибиотики, однако их эффективность снижается вследствие распространения антибиотикорезистентных штаммов *B. bronchiseptica* [15, 16]. Это влечет за собой активный рост заболеваемости среди животных, снижение продуктивности сельскохозяйственных животных и, соответственно, экономические потери в животноводстве. Прослеживается прямая угроза здоровью человека, так как присутствует риск заражения антибиотикоустойчивыми штаммами *B. bronchiseptica* от животных-носителей.

Разработка новых средств и методов профилактики и лечения бордетеллеза является актуальной задачей в ветеринарии. Одним из перспективных и безопасных решений данного вопроса является использование пре-

паратов на основе бактериофагов. Перспективы применения фагов, активных в отношении *B. bronchiseptica*, обусловлены их безопасностью, отсутствием негативного воздействия на нормофлору организма [4, 17].

Бактериофаги могут использоваться не только как альтернатива антибиотикам, но и в сочетании со всеми видами традиционной антибактериальной терапии [17]. В исследовании, проведенном G. Y. Park et al. [10], установлено, что бактериофаги обладают терапевтическим потенциалом в отношении респираторных заболеваний, вызванных *B. bronchiseptica*, и могут участвовать в подавлении бактериального воспаления. Однако механизм данного процесса остается неизученным.

Целью настоящего исследования являлось выделение бактериофагов, активных в отношении *B. bronchiseptica*, изучение их биологических свойств для дальнейшей оценки возможности практического применения в ветеринарной медицине.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы бактерий *B. bronchiseptica* выделены из клинического материала от кроликов, собак и кошек (смывы со слизистых, пробы фекалий, вода из поилок). Образцы поступали из приютов, ветеринарных клиник и ветеринарных институтов г. Москвы и Московской области. Отбор патогенных изолятов *B. bronchiseptica* для создания рабочей коллекции штаммов ООО НПЦ «МикроМир» производился по результатам идентификации микроорганизмов, выполненной микроскопическим, биохимическим и масс-спектрометрическим методами. Штаммы паспортизированы и депонированы в коллекцию микроорганизмов ООО НПЦ «МикроМир». Все исследуемые штаммы бактерий были предварительно проверены на отсутствие профагов в культуре по методу С. Лурия и Д. Дарнелла [18], а также с использованием индукции ультрафиолетовым излучением [19].

Бактерии *B. bronchiseptica* культивировали при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 24 ч на BHI-агаре (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия) с добавлением 5% стерильной дефибринированной крови барана.

Выделение бактериофагов и изучение их биологических свойств проводили методами, предложенными М. Адамсом [20] и Д. М. Гольдфарбом [21]. Источником для выделения бактериофагов служили образцы био-

материала от животных, из которых ранее были выделены штаммы *B. bronchiseptica*. Образцы ресуспендировали в 20 мл изотонического физиологического раствора. Полученную взвесь освобождали от крупных частиц и бактерий центрифугированием в низкоскоростном режиме (5000 об/мин, 20 мин) на центрифуге Avanti J-E (Beckman Coulter, Inc., США) [22]. Патологические материалы жидкой фазы центрифугировали без предварительного ресуспендирования при тех же параметрах. Супернатант отделяли от осадка и проводили центрифугирование на ультрацентрифуге Optima L-90K (Beckman Coulter, Inc., США) в высокоскоростном режиме (27 000 об/мин, 120 мин). Осадок ресуспендировали в 0,05 М Трис-НСI-буфере (pH 7,0–7,2) и фильтровали через мембранные фильтры с диаметром пор 1,2; 0,45; 0,22 мкм (Sartorius, Германия). Наличие фагов в фильтрате выявляли по методу Грация [20, 21]. Обнаружение различных видов негативных колоний на газоне роста тест-культуры свидетельствовало о присутствии нескольких видов фагов в исследуемом материале [22]. Чистые линии бактериофагов получали из морфологически однородных негативных колоний. Для этого 0,1 мл 18-часовой культуры тест-штамма засеивали в колбы с 20 мл BHI-бульона и инкубировали в термостате (Binder, Германия) при температуре 37 °C. В логарифмической фазе роста в культуру вносили фрагмент агаровой пластинки с единичным плотным лизисом. Контролем служила колба без фрагмента негативной колонии. Содержимое колб культивировали в термостате (Binder, Германия) при температуре 37 °C в течение 24 ч, по истечении данного времени в колбах с тест-штаммом наблюдалось просветление, а в контроле – выраженное помутнение среды. Затем содержимое колб центрифугировали 20 мин при 5000 об/мин на центрифуге Avanti J-E (Beckman Coulter, Inc., США) [22]. Отобранный супернатант последовательно фильтровали через мембраны с диаметром пор 1,2; 0,45; 0,22 мкм. Полученный фаголизат вновь исследовали методом агаровых слоев [20, 21]. Методику повторяли до получения однородных негативных колоний.

Для получения достаточного количества фаголизата со стабильно высоким титром бактериофаги культивировали по следующей методике: в колбы с 50 мл BHI-бульона добавляли 0,3 мл чувствительной к фагу культуры *B. bronchiseptica*. Суспензию инкубировали

в орбитальном шейкере-инкубаторе (BioSan ES-20/60, Латвия) со скоростью перемешивания 140 об/мин при температуре 37 °C в течение 2,5 ч. Затем в колбы вносили по 3,0 мл чистой линии бактериофага и культивировали при температуре 37 °C в течение 18–24 ч со скоростью перемешивания 140 об/мин. По прошествии данного времени содержимое колб центрифугировали в низкоскоростном режиме 20 мин при 5000 об/мин, затем фаговые частицы переосаждали при 27 000 об/мин в течение 120 мин на центрифуге Optima L-90K (Beckman Coulter, Inc., США). Осадок ресуспендировали в 0,05 М Трис-НСI-буфере (pH 7,0–7,2) и фильтровали через мембраны с диаметром пор 1,2; 0,45; 0,22 мкм. Для определения титра фаголизат титровали по общепринятым методикам на плотных питательных средах (метод Грация) [20, 21], после чего фильтрат помещали в стерильные пробирки для хранения при 4 °C.

Литическую активность выделенных фагов определяли по методу Грация [20, 21].

Спектр литической активности исследовали на 13 тест-культурах *B. bronchiseptica* методом спот-тестирования [22].

Изучение морфологии негативных колоний бактериофагов проводили на различных плотных питательных средах: BHI-агар 1,5%-й (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия) с добавлением 5% стерильной дефибринированной крови барана, BHI-агар 1,5%-й (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия), ГРМ-агар 1,5%-й (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия), Бордетелагар 1,5%-й (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) [23]. В пробирки с 0,8 или 0,4%-м BHI-агаром (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия) добавляли по 1,0 мл разведений титруемого бактериофага и по 0,1 мл бактериальной суспензии, затем высевали на предварительно подготовленную чашку с твердым агаром (1,5%-м). Морфологию бляшек определяли после инкубирования в течение 18–20 ч при температуре 37 °C [22].

Электронно-микроскопические исследования полученных бактериофагов, контрастированных 1%-м уранилацетатом, проводили под просвечивающим электронным микроскопом JEM-1011 (JEOL, Япония). Снимки были сделаны с помощью установленной камеры Erlangshen ES500W (Gatan, США). Измерения параметров бактериофагов производили с помощью программы ImageJ.

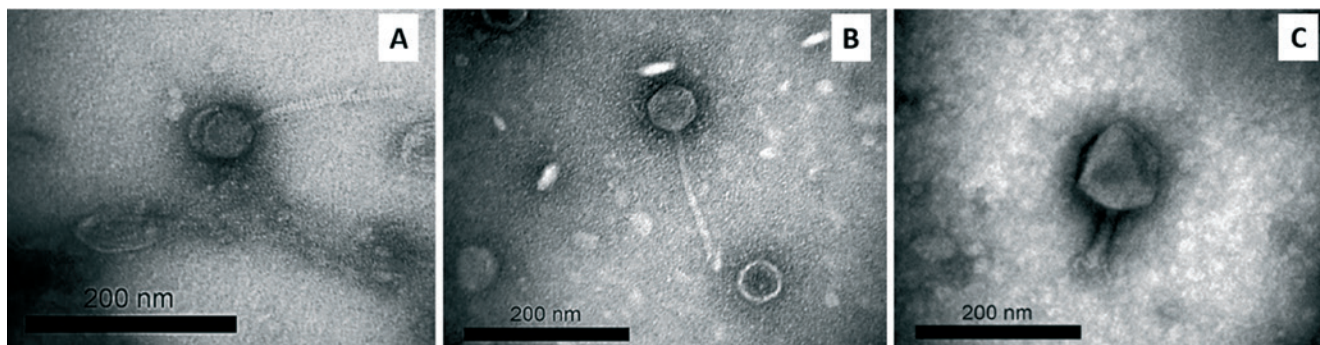


Рис. 1. Электронные микрофотографии бактериофагов, активных в отношении *B. bronchiseptica*: А – vB_BbrS_2/200220.7.2; В – vB_BbrS_4/200220.7.1; С – vB_BbrM_5/200220.7.2 (контрастирование 1%-м раствором уранилацетата, увеличение 250 000×)

Fig. 1. Electron micrographs of bacteriophages active against *B. bronchiseptica*: А – vB_BbrS_2/200220.7.2; В – vB_BbrS_4/200220.7.1; С – vB_BbrM_5/200220.7.2 (1% uranyl acetate solution used as a contrast agent, 250, 000× magnification)

Таблица 1
Морфология негативных колоний бактериофагов

Table 1
Morphology of bacteriophage negative colonies

Питательная среда	Морфология негативных колоний		
	vB_BbrS_2/200220.7.2	vB_BbrS_4/200220.7.1	vB_BbrM_5/200220.7.2
ВНИ-агар 1,5%-й с кровью	– прозрачные, $\emptyset 1,8 \pm 0,3$ мм; – мутные, $\emptyset 0,9 \pm 0,1$ мм; – прозрачные с мутным ореолом, $\emptyset 2,3 \pm 0,3$ мм	– прозрачные, $\emptyset 1,2 \pm 0,3$ мм; – мутные, $\emptyset 1,0 \pm 0,1$ мм; – прозрачные с мутным ореолом, $\emptyset 2,4 \pm 0,1$ мм	– прозрачные, $\emptyset 0,6 \pm 0,2$ мм; – мутные, $\emptyset 1,9 \pm 0,1$ мм
ВНИ-агар 1,5%-й	– мутные, $\emptyset 1,1 \pm 0,1$ мм	– мутные, $\emptyset 1,0 \pm 0,1$ мм	– мутные, $\emptyset 1,0 \pm 0,1$ мм
ГРМ-агар 1,5%-й	– мутные, $\emptyset 1,0 \pm 0,1$ мм	– мутные, $\emptyset 1,0 \pm 0,1$ мм	– мутные, $\emptyset 1,0 \pm 0,1$ мм
Бордетелагар 1,5%-й	– прозрачные, $\emptyset 2,2 \pm 0,3$ мм; – мутные, $\emptyset 0,9 \pm 0,1$ мм; – прозрачные с мутным ореолом, $\emptyset 2,4 \pm 0,2$ мм	– прозрачные, $\emptyset 1,6 \pm 0,2$ мм; – мутные, $\emptyset 1,0 \pm 0,1$ мм; – прозрачные с мутным ореолом, $\emptyset 2,6 \pm 0,1$ мм	– прозрачные, $\emptyset 1,5 \pm 0,2$ мм; – мутные, $\emptyset 1,0 \pm 0,1$ мм; – прозрачные с мутным ореолом, $\emptyset 2,1 \pm 0,1$ мм

Таблица 2
Спектр литического действия выделенных бактериофагов, активных в отношении *B. bronchiseptica*

Table 2
Lytic spectrum of isolated bacteriophages active against *B. bronchiseptica*

№ п/п	Штаммы	Бактериофаги		
		vB_BbrS_2/200220.7.2	vB_BbrS_4/200220.7.1	vB_BbrM_5/200220.7.2
1	<i>B. bronchiseptica</i> 200220.7.1	++++	++++	++++
2	<i>B. bronchiseptica</i> 200220.7.2	++++	++++	++++
3	<i>B. bronchiseptica</i> 200220.6.1	–	+	–
4	<i>B. bronchiseptica</i> 1	+	–	++
5	<i>B. bronchiseptica</i> 2	++++	++++	–
6	<i>B. bronchiseptica</i> 3	++	++	++
7	<i>B. bronchiseptica</i> 4	–	+	–
8	<i>B. bronchiseptica</i> 200220.4.4	+++	–	–
9	<i>B. bronchiseptica</i> C-93	–	+	–
10	<i>B. bronchiseptica</i> C-97	+	+++	+
11	<i>B. bronchiseptica</i> C-98	+	+	+
12	<i>B. bronchiseptica</i> 43	–	+	+
13	<i>B. bronchiseptica</i> 44	–	–	++

«–» – отсутствие зоны лизиса; «+» – образование зоны лизиса с большим количеством колоний вторичного роста бактерии; «++» – образование зоны лизиса с небольшим количеством колоний вторичного роста бактерии; «+++» – зона лизиса с единичными колониями вторичного роста; «++++» – прозрачная зона лизиса без колоний вторичного роста [25].

«–» – absence of lysis zone; «+» – lysis zone formed with multiple colonies of secondary bacterial growth; «++» – lysis zone formed with few colonies of secondary bacterial growth; «+++» – lysis zone with sporadic colonies of secondary bacterial growth; «++++» – clear lysis zone with no colonies of secondary bacterial growth [25].

Специфичность фага изучали методом спот-тестирования фаголизата на газон близкородственных бактерий: *Bordetella parapertussis* C-95, *Bordetella parapertussis* C-94, *Bordetella pertussis* C-99. Штаммы получены из коллекции микроорганизмов ООО НПЦ «Микро-Мир».

Для изучения температурной устойчивости выделенных бактериофагов фаголизаты прогревали в твердотельном термостате «Термит» (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия) с повышением температуры от 40 до 95 °C. Каждые 20 мин из пробирки отбирали пробу, при этом повышая температуру на 5 °C [24]. Контрольные пробирки не прогревали. Активность исследуемых фагов определяли по методу Грация [20, 21].

Изучение стабильности титра фага, закрытого во флакон и хранящегося при температуре 4–8 °C без добавления консерванта в течение 8 мес., проводили по методу Грация [20, 21].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из образцов биоматериала от животных выделено 3 новых вирулентных бактериофага (рис. 1), которым присвоены наименования: vB_BbrS_2/200220.7.2; vB_BbrS_4/200220.7.1; vB_BbrM_5/200220.7.2.

Морфологию негативных колоний бактериофагов изучали на различных питательных средах и анализировали по двум параметрам – размеру и прозрачности. Проявление этих признаков зависело от состава питательной среды и концентрации агара в верхнем слое. В таблице 1 представлены результаты анализа морфологии негативных колоний бактериофагов, полученных на штаммах *B. bronchiseptica*. На различных средах наблюдалась диссоциация негативных колоний на прозрачные, мутные и прозрачные с мутными ореолами. Бляшки также различались по размеру, самые маленькие имели диаметр $0,6 \pm 0,2$ мм, а самые большие – $2,6 \pm 0,1$ мм. Стоит отметить, что данная морфология бляшек отмечена при использовании в верхнем слое 0,8%-го агара. В то же время при использовании в верхнем слое 0,4%-го агара на питательных средах ВНИ- и ГРМ-агаре образуются преимущественно крупные ($2,5 \pm 0,1$ мм) прозрачные колонии, т. е. разведение агара способствует образованию большего количества прозрачных колоний и увеличению размера бляшек. Таким образом, состав питательной среды оказывает значительное влияние на морфологию бляшек, что соответствует выводам, сделанным N. Ramesh et al. [23]. Кроме того, в работе М. Адамса [20] отмечалось также, что подсчет стерильных пятен не имеет абсолютного значения – количество фаговых частиц в препарате зависит от состава питательной среды и штамма чувствительных бактерий.

Титры бактериофагов vB_BbrS_2/200220.7.2; vB_BbrM_5/200220.7.2 исследованы на тест-штамме *B. bronchiseptica* 200220.7.2 и составили $(2,3 \pm 1,4) \times 10^8$; $(6,1 \pm 1,2) \times 10^8$ БОЕ/мл соответственно. Наиболее высоким титром обладал бактериофаг vB_BbrS_4/200220.7.1 – $(9,0 \pm 0,2) \times 10^8$ БОЕ/мл. Его титр исследован на тест-штамме *B. bronchiseptica* 200220.7.1.

Результаты исследований спектра литической активности выделенных бактериофагов представлены в таблице 2. Данные получены на основе трех повторений. Исследования показали, что выделенные бактериофаги характеризуются различным спектром литического действия. Максимальным спектром литического действия

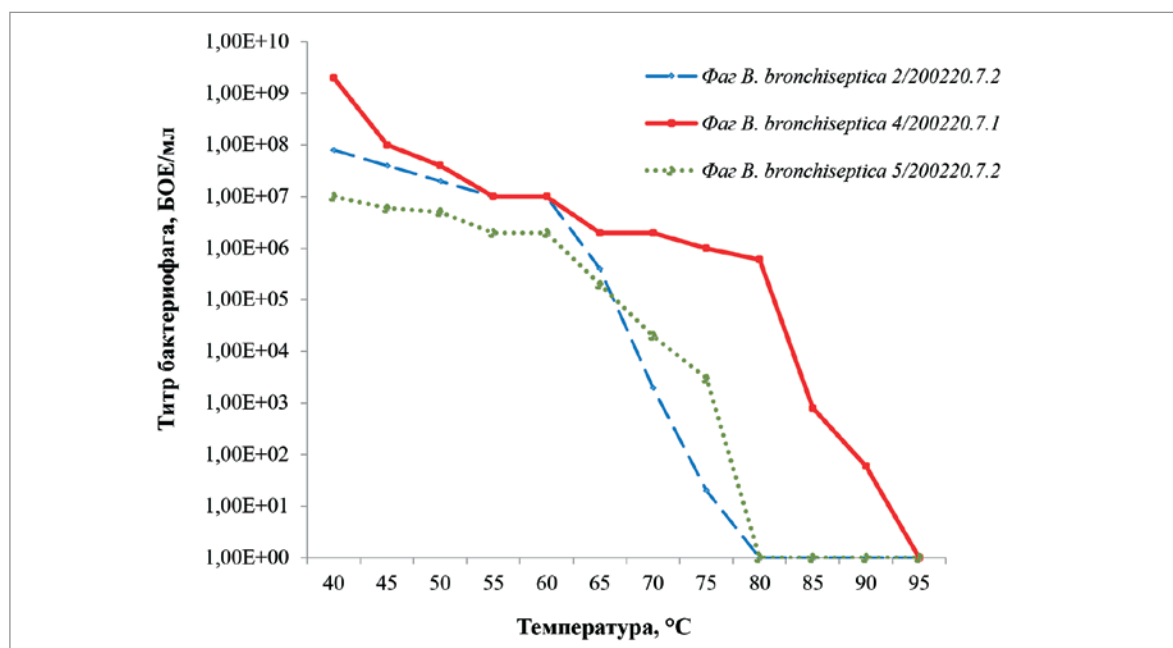


Рис. 2. Устойчивость выделенных бактериофагов к тепловому воздействию

Fig. 2. Heat resistance of isolated bacteriophages

ческого действия обладал фаж vB_BbrS_4/200220.7.1, который лизировал 10 из 13 бактериальных штаммов, что составило 76,9%. Бактериофаги vB_BbrS_2/200220.7.2 и vB_BbrM_5/200220.7.2 лизировали 61,5% штаммов *B. bronchiseptica*.

Для каждого выделенного бактериофага были определены такие параметры, как среднее значение диаметра головки (по противоположным углам) и среднее значение длины хвоста. Вирионы фага vB_BbrS_2/200220.7.2 состоят из головки икосаэдрической формы размером $49 \pm 2,67$ нм и изгибаемого несокращающегося отростка длиной $171 \pm 2,26$ нм. Вирионы бактериофага vB_BbrS_4/200220.7.1 имеют сходные с фагом vB_BbrS_2/200220.7.2 морфологические характеристики: головка икосаэдрической формы размером $61 \pm 2,88$ нм и изгибаемый несокращающийся отросток длиной $158 \pm 6,17$ нм. Вирионы фага vB_BbrM_5/200220.7.2 состоят из головки икосаэдрической формы размером $108 \pm 3,49$ нм и прямого сокращающегося хвостового отростка длиной $69 \pm 5,37$ нм. В соответствии с международным стандартом фаги vB_BbrS_2/200220.7.2 и vB_BbrS_4/200220.7.1 отнесены к семейству *Siphoviridae*, бактериофаг vB_BbrM_5/200220.7.2 – к семейству *Myoviridae*.

Изучение специфичности показало, что выделенные бактериофаги лизируют не только штаммы *B. bronchiseptica*, но также проявляют активность в отношении штаммов *Bordetella parapertussis* C-95 и *Bordetella parapertussis* C-94.

В результате исследования температурной устойчивости бактериофагов установлено, что прогревание фагов в течение 20 мин свыше 40°C приводит к снижению их литической активности (рис. 2). При температуре 80°C происходит полная инактивация бактериофагов vB_BbrS_2/200220.7.2 и vB_BbrM_5/200220.7.2, при 95°C – бактериофага vB_BbrS_4/200220.7.1. Данные получены на основе трех повторений.

Для использования выделенных фагов в производстве необходимо исследовать изменение литической активности с течением времени [26, 27]. Фильтраты бактериофагов хранились во флаконах при температуре $4-8^\circ\text{C}$ без добавления консерванта. Литическую активность определяли по истечении 8 мес. Установлено, что в течение данного периода времени титр бактериофагов не снизился. Результаты представлены в таблице 3.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, бактериофаги vB_BbrS_2/200220.7.2, vB_BbrS_4/200220.7.1, vB_BbrM_5/200220.7.2, по результатам исследований *in vitro*, являются перспективными для дальнейших научных исследований в контексте фототерапии заболеваний, вызванных бактерией *B. bronchiseptica*. Применение препаратов на основе вирулентных бактериофагов в ветеринарии позволит безопасно и эффективно устранять инфекцию без воздействия на нормофлору, минимизировать риск передачи антибиотикоустойчивых штаммов *B. bronchiseptica* человеку, снизить потери продуктивности сельскохозяйственных животных и улучшить экономические показатели в отрасли животноводства.

Таблица 3

Изменение литической активности бактериофагов, активных в отношении *B. bronchiseptica*, с течением времени

Table 3

Temporal variations in lytic activity of bacteriophages active against *B. bronchiseptica*

Бактериофаг	Титр до хранения, БОЕ/мл	Титр после 8 мес. хранения, БОЕ/мл
vB_BbrS_2/200220.7.2	$(2,3 \pm 1,4) \times 10^8$	$(3,1 \pm 0,4) \times 10^8$
vB_BbrS_4/200220.7.1	$(9,0 \pm 0,2) \times 10^8$	$(8,6 \pm 0,2) \times 10^8$
vB_BbrM_5/200220.7.2	$(6,1 \pm 1,2) \times 10^8$	$(4,1 \pm 1,1) \times 10^8$

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Беляева А. С., Савинов В. А., Капустин А. В., Лаишевцев А. И. Бордетеллез домашних животных. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2019; 7: 111–119. eLIBRARY ID: 41253859.
2. Васильев Д. А., Васильева Ю. Б., Мاستиленко А. В., Сверкалова Д. Г., Семанина Е. Н., Борисова О. Ю. и др. Бордетеллез животных: характеристика заболевания и возбудителя, разработка методов диагностики. Ульяновск: УГСХА им. П. А. Столыпина; 2014. 206 с.
3. МР 3.1.2.0072-13 Диагностика коклюша и паракоклюша: методические рекомендации. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2013. 56 с. Режим доступа: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293743/4293743262.pdf>.
4. Szymczak M., Grygorciewicz B., Karczewska-Golec J., Decewicz P., Panowski J. A., Orszagh-Szturo H., et al. Characterization of a unique *Bordetella bronchiseptica* vB_BbrP_BB8 bacteriophage and its application as an antibacterial agent. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21 (4):1403. DOI: 10.3390/ijms21041403.
5. Brady C., Ackerman P., Johnson M., McNamara J. *Bordetella bronchiseptica* in a pediatric Cystic Fibrosis center. *J. Cyst. Fibros.* 2014; 13 (1): 43–48. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.08.002.
6. Monti M., Diano D., Allegrini F., Delmonte A., Fausti V., Cravero P., et al. *Bordetella bronchiseptica* pneumonia in a patient with lung cancer; a case report of a rare infection. *BMC Infect. Dis.* 2017; 17 (1):644. DOI: 10.1186/s12879-017-2736-7.
7. Coutts A. J., Dawson S., Binns S., Hart C. A., Gaskell C. J., Gaskell R. M. Studies on natural transmission of *Bordetella bronchiseptica* in cats. *Vet. Microbiol.* 1996; 48 (1–2): 19–27. DOI: 10.1016/0378-1135(95)00128-x.
8. Dawson S., Jones D., McCracken C. M., Gaskell R. M., Hart C. A., Gaskell C. J. *Bordetella bronchiseptica* infection in cats following contact with infected dogs. *Vet. Rec.* 2000; 146 (2): 46–48. DOI: 10.1136/vr.146.2.46.
9. Chen Y., Yang L., Sun E., Song J., Wu B. Characterisation of a newly detected bacteriophage infecting *Bordetella bronchiseptica* in swine. *Arch. Virol.* 2019; 164 (1): 33–40. DOI: 10.1007/s00705-018-4034-0.
10. Park G. Y., Yu H. J., Son J. S., Park S. J., Cha H. J., Song K. S. Specific bacteriophage of *Bordetella bronchiseptica* regulates *B. bronchiseptica*-induced microRNA expression profiles to decrease inflammation in swine nasal turbinate cells. *Genes Genomics.* 2020; 42 (4): 441–447. DOI: 10.1007/s13258-019-00906-7.
11. Dworkin M. S., Sullivan P. S., Buskin S. E., Harrington R. D., Olliffe J., MacArthur R. D., Lopez C. E. *Bordetella bronchiseptica* infection in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin. Infect. Dis.* 1999; 28 (5): 1095–1099. DOI: 10.1086/514761.
12. Ner Z., Ross L. A., Horn M. V., Keens T. G., MacLaughlin E. F., Starnes V. A., Woo M. S. *Bordetella bronchiseptica* infection in pediatric lung transplant recipients. *Pediatr. Transplant.* 2003; 7 (5): 413–417. DOI: 10.1034/j.1399-3046.2003.00074.x.
13. Powers H. R., Shah K. *Bordetella bronchiseptica* bloodstream infection in a renal transplant patient. *Transpl. Infect. Dis.* 2017; 19 (6). DOI: 10.1111/tid.12774.
14. Rampelotto R. F., Hörner A., Hörner C., Righi R., Hörner R. Pneumonia caused by *Bordetella bronchiseptica* in two HIV-positive patients. *Sao Paulo Med. J.* 2016; 134 (3): 268–272. DOI: 10.1590/1516-3180.2015.02492701.
15. Dewan K. K., Skarlupka A. L., Rivera I., Cuff L. E., Gestal M. C., Taylor-Mulneix D. L., et al. Development of macrolide resistance in *Bordetella bronchiseptica* is associated with the loss of virulence. *J. Antimicrob. Chemother.* 2018; 73 (10): 2797–2805. DOI: 10.1093/jac/dky264.
16. Kadlec K., Schwarz S. Antimicrobial resistance in *Bordetella bronchiseptica*. *Microbiol. Spectr.* 2018; 6 (4). DOI: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0024-2017.
17. Мотовилова Т. М., Качалина Т. С., Аникина Т. А. Оценка роли бактериофагов в этиотропной терапии инфекционно-воспалительных процессов на примере лечения хронического неспецифического эндопериостита. *Взгляд клинициста. Трудный пациент*. 2013; 11 (8–9): 20–24. eLIBRARY ID: 20658728.
18. Садртдинова Г. Р. Усовершенствование схемы индикации и идентификации бактерий вида *Klebsiella oxytoca* с помощью фагового биопрепарата: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа; 2017. 21 с. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01008710265?page=1&rotate=0&theme=white>.
19. Романова Н. А., Феоктистова Н. А., Золотухин С. Н., Васильев Д. А., Алешкин А. В. Сравнительная эффективность методов выделения фагов бактерий *Bacillus megaterium*. *Вестник ветеринарии*. 2013; 64 (1): 26–27. eLIBRARY ID: 18337641.
20. Адамс М. Бактериофаги. М.: Медгиз, 1961. 521 с.
21. Гольдфарб Д. М. Бактериофагия. М.: Медгиз; 1961. 298 с.
22. Руководство по медицинской микробиологии. Книга 1. Общая и санитарная микробиология. Под ред. А. С. Лабинской, Е. Г. Волиной. М.: Бином; 2008. 1077 с.
23. Ramesh N., Archana L., Madurantakam Royam M., Manohar P., Eniyan K. Effect of various bacteriological media on the plaque morphology

of *Staphylococcus* and *Vibrio* phages. *Access Microbiol.* 2019; 1 (4):e000036. DOI: 10.1099/acmi.0.000036.

24. Горшков И. Г., Виктор Д. А., Васильев Д. А. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов *Aeromonas sobria*. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2015; 3: 59–63. DOI: 10.18286/1816-4501-2015-3-59-63.

25. Асланов Б. И., Зуева Л. П., Кафтырева Л. А., Бойцов А. Г., Акимкин В. Г., Долгий А. А. и др. Рациональное применение бактериофагов в лечебной и противоэпидемической практике: федеральные клинические (методические) рекомендации. Нижний Новгород: Ремедиум Приволжье; 2014. 54 с.

26. Рыскалиева Б. Ж., Беккалиева А. К., Ляшенко Е. А. Выделение и исследование биологических свойств бактериофага, активного в отношении фитопатогенных бактерий *Pectobacterium carotovorum*. *Устойчивое развитие науки и образования*. 2018; 10: 180–184.

27. Семанина Е. Н. Выделение и изучение биологических свойств бактериофагов *Bordetella bronchiseptica* и разработка на их основе биопрепарата для индикации и идентификации: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Саратов; 2012. 21 с. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01005012190?page=1&rotate=0&theme=white>.

REFERENCES

1. Belyaeva A. S., Savinov V. A., Kapustin A. V., Laishevtcev A. I. Animal bordetellosis. *Bulletin of the Kursk Agricultural Academy*. 2019; 7: 111–119. eLIBRARY ID: 41253859. (in Russ.)
2. Vasiliev D. A., Vasilieva Ju. B., Mastilenko A. V., Sverkalova D. G., Semanina E. N., Borisova O. Ju., et al. Animal bordetellosis: disease and pathogen description, diagnostic method development. Ulyanovsk: USAU named after P. A. Stolypin; 2014. 206 p. (in Russ.)
3. МР 3.1.2.0072-13 Whooping cough and parapertussis diagnosis: methodical guidelines. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор; 2013. 56 p. Available at: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293743/4293743262.pdf>. (in Russ.)
4. Szymczak M., Grygorciewicz B., Karczewska-Golec J., Decewicz P., Panowski J. A., Orszagh-Szturo H., et al. Characterization of a unique *Bordetella bronchiseptica* vB_BbrP_BB8 bacteriophage and its application as an antibacterial agent. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21 (4):1403. DOI: 10.3390/ijms21041403.
5. Brady C., Ackerman P., Johnson M., McNamara J. *Bordetella bronchiseptica* in a pediatric Cystic Fibrosis center. *J. Cyst. Fibros.* 2014; 13 (1): 43–48. DOI: 10.1016/j.jcf.2013.08.002.
6. Monti M., Diano D., Allegrini F., Delmonte A., Fausti V., Cravero P., et al. *Bordetella bronchiseptica* pneumonia in a patient with lung cancer; a case report of a rare infection. *BMC Infect. Dis.* 2017; 17 (1):644. DOI: 10.1186/s12879-017-2736-7.
7. Coutts A. J., Dawson S., Binns S., Hart C. A., Gaskell C. J., Gaskell R. M. Studies on natural transmission of *Bordetella bronchiseptica* in cats. *Vet. Microbiol.* 1996; 48 (1–2): 19–27. DOI: 10.1016/0378-1135(95)00128-x.
8. Dawson S., Jones D., McCracken C. M., Gaskell R. M., Hart C. A., Gaskell C. J. *Bordetella bronchiseptica* infection in cats following contact with infected dogs. *Vet. Rec.* 2000; 146 (2): 46–48. DOI: 10.1136/vr.146.2.46.
9. Chen Y., Yang L., Sun E., Song J., Wu B. Characterisation of a newly detected bacteriophage infecting *Bordetella bronchiseptica* in swine. *Arch. Virol.* 2019; 164 (1): 33–40. DOI: 10.1007/s00705-018-4034-0.
10. Park G. Y., Yu H. J., Son J. S., Park S. J., Cha H. J., Song K. S. Specific bacteriophage of *Bordetella bronchiseptica* regulates *B. bronchiseptica*-induced microRNA expression profiles to decrease inflammation in swine nasal turbinate cells. *Genes Genomics.* 2020; 42 (4): 441–447. DOI: 10.1007/s13258-019-00906-7.
11. Dworkin M. S., Sullivan P. S., Buskin S. E., Harrington R. D., Olliffe J., MacArthur R. D., Lopez C. E. *Bordetella bronchiseptica* infection in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin. Infect. Dis.* 1999; 28 (5): 1095–1099. DOI: 10.1086/514761.
12. Ner Z., Ross L. A., Horn M. V., Keens T. G., MacLaughlin E. F., Starnes V. A., Woo M. S. *Bordetella bronchiseptica* infection in pediatric lung transplant recipients. *Pediatr. Transplant.* 2003; 7 (5): 413–417. DOI: 10.1034/j.1399-3046.2003.00074.x.
13. Powers H. R., Shah K. *Bordetella bronchiseptica* bloodstream infection in a renal transplant patient. *Transpl. Infect. Dis.* 2017; 19 (6). DOI: 10.1111/tid.12774.
14. Rampelotto R. F., Hörner A., Hörner C., Righi R., Hörner R. Pneumonia caused by *Bordetella bronchiseptica* in two HIV-positive patients. *Sao Paulo Med. J.* 2016; 134 (3): 268–272. DOI: 10.1590/1516-3180.2015.02492701.
15. Dewan K. K., Skarlupka A. L., Rivera I., Cuff L. E., Gestal M. C., Taylor-Mulneix D. L., et al. Development of macrolide resistance in *Bordetella bronchiseptica* is associated with the loss of virulence. *J. Antimicrob. Chemother.* 2018; 73 (10): 2797–2805. DOI: 10.1093/jac/dky264.
16. Kadlec K., Schwarz S. Antimicrobial resistance in *Bordetella bronchiseptica*. *Microbiol. Spectr.* 2018; 6 (4). DOI: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0024-2017.
17. Мотовилова Т. М., Качалина Т. С., Аникина Т. А. Оценка роли бактериофагов в этиотропной терапии инфекционно-воспалительных процессов на примере лечения хронического неспецифического эндопериостита. *Взгляд клинициста. Трудный пациент*. 2013; 11 (8–9): 20–24. eLIBRARY ID: 20658728.
18. Садртдинова Г. Р. Усовершенствование схемы индикации и идентификации бактерий вида *Klebsiella oxytoca* с помощью фагового биопрепарата: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Уфа; 2017. 21 с. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01008710265?page=1&rotate=0&theme=white>.
19. Романова Н. А., Феоктистова Н. А., Золотухин С. Н., Васильев Д. А., Алешкин А. В. Сравнительная эффективность методов выделения фагов бактерий *Bacillus megaterium*. *Вестник ветеринарии*. 2013; 64 (1): 26–27. eLIBRARY ID: 18337641.
20. Адамс М. Бактериофаги. М.: Медгиз, 1961. 521 с.
21. Гольдфарб Д. М. Бактериофагия. М.: Медгиз; 1961. 298 с.
22. Руководство по медицинской микробиологии. Книга 1. Общая и санитарная микробиология. Под ред. А. С. Лабинской, Е. Г. Волиной. М.: Бином; 2008. 1077 с.
23. Ramesh N., Archana L., Madurantakam Royam M., Manohar P., Eniyan K. Effect of various bacteriological media on the plaque morphology

17. Motovilova T. M., Kachalina T. S., Anikina T. A. Assessment of bacteriophages as etiotropic treatment for infectious and inflammatory processes on the pattern of chronic non-specific endometritis. The clinical view. *Difficult Patient*. 2013; 11 (8–9): 20–24. eLIBRARY ID: 20658728. (in Russ.)
18. Sadrtidinova G. R. Improvement of indication and identification scheme of *Klebsiella oxytoca* bacteria using phage biological product: author's abstract of Candidate of Science (Biology) thesis. Ufa; 2017. 21 p. Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01008710265?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
19. Romanova N. A., Feoktistova N. A., Zolotukhin S. N., Vasilyev D. A., Aleshkin A. V. Comparative efficacy of isolation methods for phages of *Bacillus megaterium*. *Vestnik veterinarii*. 2013; 64 (1): 26–27. eLIBRARY ID: 18337641. (in Russ.)
20. Adams M. H. Bacteriophages. New York – London: Interscience Publishers; 1959. 592 p.
21. Goldfarb D. M. Bacteriophagy. Moscow: Medgiz; 1961. 298 p. (in Russ.)
22. Medical microbiology guide. Book 1. General and sanitary microbiology. Ed. by A. S. Labinskaya, E. G. Volina. Moscow: Binom; 2008. 1077 p. (in Russ.)
23. Ramesh N., Archana L., Madurantakam Royam M., Manohar P., Eniyan K. Effect of various bacteriological media on the plaque morphology of *Staphylococcus* and *Vibrio* phages. *Access Microbiol*. 2019; 1 (4): e000036. DOI: 10.1099/acmi.0.000036.
24. Gorshkov I. G., Viktorov D. A., Vasilyev D. A. Isolation and study of biological properties of bacteriophages *Aeromonas sobria*. *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2015; 3: 59–63. DOI: 10.18286/1816-4501-2015-3-59-63. (in Russ.)
25. Aslanov B. I., Zueva L. P., Kaftyreva L. A., Boytsov A. G., Akimkin V. G., Dolgiy A. A., et al. Rational use of bacteriophages in medical and anti-epidemic practice: federal clinical (methodical) guidelines. Nizhny Novgorod: Remedium Privolzh'e; 2014. 54 p. (in Russ.)
26. Ryskaliyeva B. Zh., Bekkaliyeva A. K., Lyashenko E. A. Isolation and study of the biological properties of bacteriophages active against phytopathogenic bacteria *Pectobacterium carotovorum*. *Ustoichivoe razvitie nauki i obrazovaniya*. 2018; 10: 180–184. (in Russ.)
27. Semanina E. N. Isolation and study of *Bordetella bronchiseptica* bacteriophage biological properties and development of a relevant biological product for indication and identification: author's abstract of Candidate of Science (Biology) thesis. Saratov; 2012. 21 p. Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01005012190?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 11.04.2022

Поступила после рецензирования / Revised 18.05.2022

Принята к публикации / Accepted 14.06.20

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Кочетова Татьяна Андреевна, научный сотрудник ООО НПЦ «МикроМир», г. Москва, Россия.

Юскевич Виктория Викторовна, кандидат биологических наук, заведующий бактериологической лабораторией ООО НПЦ «МикроМир», г. Москва, Россия.

Садикова Гульнур Тахавиевна, научный сотрудник ООО НПЦ «МикроМир», г. Москва, Россия.

Попова Валентина Михайловна, кандидат медицинских наук, заместитель генерального директора ООО НПЦ «МикроМир», г. Москва, Россия

Tatiana A. Kochetova, Researcher, Research and Production Center "MicroMir" LLC, Moscow, Russia.

Victoria V. Yuskevich, Candidate of Science (Biology), Head of Bacteriological Laboratory, Research and Production Center "MicroMir" LLC, Moscow, Russia.

Gulnur T. Sadykova, Researcher, Research and Production Center "MicroMir" LLC, Moscow, Russia.

Valentina M. Popova, Candidate of Science (Medicine), Deputy General Director, Research and Production Center "MicroMir" LLC, Moscow, Russia.

DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-280-284
УДК 576.3:57.017.642:57.088



Электропорация эмбриональных стволовых клеток мыши с помощью прибора Neon

И. П. Савченкова¹, А. А. Савченкова²

¹ ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), г. Москва, Россия

² ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина» (ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина), г. Москва, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0003-3560-5045>, e-mail: s-ip@mail.ru

² e-mail: redbullshark01@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Эмбриональные стволовые клетки мыши широко используются в качестве перспективного материала для создания новых клеточных систем с заданными свойствами в клеточной и молекулярной биологии, фармакологии, вирусологии, медицине, ветеринарии и биотехнологии. Для каждого типа клеток требуются разные условия электропорации, которые должны быть определены экспериментально, поэтому была поставлена цель путем подбора и изменения различных параметров (напряжения, ширины импульса и количества импульсов) оптимизировать условия электропорации при использовании электропоратора нового поколения Neon® Transfection System, обеспечивающие высокую эффективность трансфекции эмбриональных стволовых клеток линии D3 и их жизнеспособность. Установлено, что наиболее подходящими параметрами для данных клеток являются: импульсное напряжение – 1200 В, ширина импульса – 10 мс, количество импульсов – 3. При данных условиях жизнеспособность клеток после электропорации составила 91%, а эффективность временной трансфекции (24 ч после электропорации), оцениваемая по продукции бактериальной β-галактозидазы, достигала 88%. Показано, что при более высокой клеточной концентрации любые испытанные режимы электропорации обеспечивают более высокую эффективность трансфекции в диапазоне от 34 до 88%. Продemonстрировано, что для введения ДНК плазмиды с геном *lacZ Escherichia coli* в клетки линии D3 из 12 изученных протоколов с разными параметрами можно успешно использовать 5. Таким образом, полученные в эксперименте результаты показывают, что, имея предварительную информацию о режимах электропорации аналогичного типа клеток, которую рекомендует производитель прибора, можно подобрать экспериментальным путем более оптимальные условия. Электропорация эмбриональных стволовых клеток мыши с использованием электропоратора нового поколения может быть эффективным методом введения нуклеиновых кислот в представляющие интерес для исследователя клетки *in vitro*.

Ключевые слова: эмбриональные стволовые клетки, введение экзогенной ДНК плазмиды, электропоратор Neon, ген *lacZ Escherichia coli*, эффективность трансфекции, жизнеспособность

Благодарности: Работа выполнена по теме FGUG-2022-0010 «Поддержание и развитие коллекций культур клеток и микроорганизмов на основе фундаментальных исследований, разработка бактериальных и вирусных штаммов с заданными свойствами для применения в ветеринарной медицине с использованием методов биотехнологии, в том числе на основе клеточных нанобиотехнологий, усовершенствование диагностики и средств специфической профилактики инфекционных болезней».

Для цитирования: Савченкова И. П., Савченкова А. А. Электропорация эмбриональных стволовых клеток мыши с помощью прибора Neon. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 280–284. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-280-284.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Савченкова Ирина Петровна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории стволовой клетки ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, 109428, Россия, г. Москва, Рязанский пр., д. 24, корпус 1, e-mail: s-ip@mail.ru.

Electroporation of mouse embryonic stem cells with Neon device

I. P. Savchenkova¹, A. A. Savchenkova²

¹ Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV" (FSC VIEV), Moscow, Russia

² Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "Moscow state Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA by K. I. Skryabin" (Moscow SAVMB), Moscow, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0003-3560-5045>, e-mail: s-ip@mail.ru

² e-mail: redbullshark01@gmail.com

SUMMARY

Mouse embryonic stem cells are widely used as a promising material for producing of new cellular systems with desired properties in cellular and molecular biology, pharmacology, virology, medicine, veterinary medicine and biotechnology. Each type of cells requires different electroporation conditions that are determined experimentally. Therefore, the main goal was to optimize conditions of electroporation with Neon® Transfection System, a new-generation device, by selecting

and changing of various parameters (voltage, impulse width and number of impulses) to maximize efficiency of D3 embryonic stem cell line transfection and to maintain cell viability. The following parameters were found to be the most optimal for the said cells: impulse voltage – 1200 V, impulse width – 10 ms, number of impulses – 3. Under given conditions, viability of the cells after electroporation was 91%, and transient transfection efficiency (24 hours after electroporation) assessed based on bacterial β -galactosidase production was 88%. It was shown that with higher cell density any electroporation condition tested yielded higher transfection efficiency ranging between 34 and 88%. It was demonstrated that only 5 out of 12 tested protocols with different parameters could be successfully used for insertion of DNA plasmid carrying *lacZ Escherichia coli* gene into D3 cell line. Thus, the experiment results show the more optimal conditions can be selected experimentally taking into account available information on electroporation protocols for similar cell types recommended by the device manufacturer. Electroporation of mouse embryonic stem cells with the new-generation device can be an effective method for *in vitro* insertion of nucleic acids into the cells of interest to the researcher.

Keywords: embryonic stem cells, insertion of exogenous DNA plasmid, Neon electroporation device, *lacZ Escherichia coli* gene, transfection efficiency, viability

Acknowledgements: The study was carried out within FGUG-2022-0010 "Maintaining and developing collections of cell cultures and microorganisms based on the fundamental studies, development of bacterial and viral strains with desired properties for use in veterinary medicine with biotechnological methods including nanobiotechnologies, improvement of infectious disease diagnosis and specific prevention tools".

For citation: Savchenkova I. P., Savchenkova A. A. Electroporation of mouse embryonic stem cells with Neon device. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 280–284. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-280-284.

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

For correspondence: Irina P. Savchenkova, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Stem Cell Laboratory, FSC VIEV, 109428, Russia, Moscow, Rjazanskij prospekt, d. 24, корпус 1, e-mail: *s-ip@mail.ru*

ВВЕДЕНИЕ

С момента своего открытия в 1981 г. [1, 2] мышечные эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) широко используются в качестве перспективного материала для создания новых клеточных систем с заданными свойствами в клеточной и молекулярной биологии, фармакологии, вирусологии, медицине, ветеринарии и биотехнологии. К особенностям этих клеток относят высокую скорость удвоения, экспрессию специфических генов-маркеров, которые подтверждают их происхождение, способность реагировать на факторы роста, вызывая морфологические и биохимические изменения, приводящие к дифференцировке ЭСК в клетки с фенотипом, подобным более 225 клеточным типам, в культуре, и сохранение ими свойств ранних предимплантационных эмбрионов как *in vitro*, так и *in vivo*.

Введение экзогенной ДНК в ЭСК мыши позволяет не только генетически модифицировать их геном, но и использовать такие клетки для создания животных с генетически отредактированными генами [3]. Методы введения рекомбинантных молекул в ЭСК требуют тщательного подбора из-за их морфологических особенностей: мелкие клетки с крупным ядром и узким ободком цитоплазмы, которые растут плотными колониями, как правило, на монослое фибробластов. Электропорация рассматривается как наиболее приемлемый способ введения экзогенной ДНК в эти клетки с высокой эффективностью, без клеточных изменений и с сохранением их способности к дифференцировке [4]. Во время такой трансфекции клетки подвергаются воздействию высоковольтного импульса в присутствии экзогенной нуклеиновой кислоты. Высокое напряжение вызывает кратковременную проницаемость клеточной мембраны, что позволяет чужеродным нуклеиновым кислотам проникать в клетку [5, 6]. Для каждого типа клеток требуются разные условия электропорации, которые должны быть определены экспериментально. Надо учитывать напряженность электрического поля и длительность импульса, которые являются ключевыми параметрами

для достижения максимальной эффективности трансфекции и поддержания жизнеспособности клеток после процедуры. Импульс, подаваемый на клетки, может быть сгенерирован в виде двух различных волновых форм: прямоугольного и экспоненциального затухания. Формы прямоугольной волны основаны на постоянном заряде, приложенном к клеткам в течение установленного времени. Использование прямоугольных сигналов позволяет применять несколько импульсов. Во время экспоненциальной формы волны затухания задается начальное напряжение, а продолжительность затухания (постоянная времени) является производным установкой емкости и сопротивления образца. Поскольку сопротивление образца в основном зависит от ионной силы буфера для электропорации, так что сопротивление является постоянным, можно эмпирически определить влияние изменения настройки емкости на импульс [7]. Компоненты буферного раствора также влияют на эффективность трансфекции и жизнеспособность клеток. Ранее буферный раствор с высокой ионной силой (низкое сопротивление), такой как фосфатно-солевой буфер (ФСБ) или бессывороточная среда для роста, был адаптирован для электропорации ЭСК мыши линии D3 при высокой емкости [8].

В связи с приобретением электропоратора нового поколения Neon® Transfection System (Invitrogene, Thermo Fisher Scientific, США) была поставлена цель оптимизировать условия электропорации, обеспечивающие высокую эффективность трансфекции ЭСК мыши и их жизнеспособность. В отличие от ранее используемых систем для электропорации, например Gene Pulser (Bio-Rad), воздействие электрическими импульсами происходит не в кюветах, а в уникальных наконечниках 100 или 10 мкл в качестве электропорационной камеры. Было показано, что с помощью данного прибора можно успешно трансфицировать некомпетентные к поглощению экзогенной ДНК клетки, первичные и иммортализованные гематopoэтические клетки, а также стволовые клетки и клетки различных тканей [9–11].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования были мышинные ЭСК линии D3. Клетки культивировали в среде DMEM, которая содержала 4,5 г/л глюкозы, 10% сыворотки крови плодов коров (HyClone, США), однократный раствор незаменимых аминокислот, 2 мМ α -глутамин, 0,1 мМ β -меркаптоэтанол и антибиотики: пенициллин и стрептомицин в конечной концентрации 50 ед/мл и 50 мкг/мл соответственно (НПП «ПанЭко», Россия). Эмбриональные стволовые клетки культивировали на монослое, представленном мышинными диплоидными эмбриональными фибробластами, у которых предварительно был заблокирован митоз митомизином С (конечная концентрация 30 мкг/мл, в течение 3 ч).

Для трансфекции использовали плазмиду pcDNATM3.1/His/lacZ, содержащую нуклеотидную последовательность маркерного бактериального гена *lacZ Escherichia coli*. Перед трансфекцией экзогенную ДНК переосаждали этанолом (70°) и растворяли в стерильном буфере (0,1 мМ ЭДТА, 1 мМ трис-HCl, pH 8,0).

Трансфекцию проводили электропорацией на приборе Neon® Transfection System с использованием стартового набора реагентов согласно инструкции производителя (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США). За день до трансфекции ЭСК пассировали с целью их отделения от клеток фидерного слоя (метод разделения по адгезии) и высевали в чашки Петри (диаметр 60 мм) без фибробластов за 24 ч до трансфекции, чтобы они находились в экспоненциальной фазе роста в день электропорации.

Перед электропорацией клетки дважды промывали фосфатно-солевым буферным раствором без

ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} (ФСБ-2), добавляли 1 мл трипсина (НПП «ПанЭко», Россия) и инкубировали в течение 2 мин при 37 °С. После внесения 9 мл DMEM с добавками клетки ресуспендировали, переносили в стерильную полипропиленовую пробирку на 15 мл (Sarstedt, Германия) и центрифугировали при 200 g в течение 5 мин. Осадок ресуспендировали в 10 мл ФСБ и подсчитывали клетки в камере Горяева. Клетки снова осаждали и к осадку добавляли буферный раствор R из набора для электропорации: в одном случае до конечной концентрации клеток $1,0 \times 10^7$ клеток/мл, а во втором – в два раза меньше ($0,5 \times 10^7$ клеток/мл), а также ДНК плазмиды pcDNATM3.1/His/lacZ (конечная концентрация 1 мкг/мл). ДНК и ЭСК в буфере перемешивали и 10 мкл смеси набирали пипеткой с наконечниками для электропорации. Фиксировали пипетку в держателе для электропорации и подвергали воздействию электрического тока с использованием предварительно заданных или введенных вручную протоколов в системе Neon. Клетки, подвергшиеся трансфекции в объеме 10 мкл, переносили в лунку 24-луночного планшета для тканевых культур, которая содержала 500 мкл соответствующей ростовой среды без антибиотиков, и далее процедуру повторяли 11 раз для каждой концентрации клеток, только меняя параметры на электропораторе. Планшет с трансфицированными мышинными ЭСК и контролем (нетрансфицированные) инкубировали при 37 °С в увлажненной атмосфере с 5% CO_2 в течение 24 ч.

Жизнеспособность клеток после электропорации оценивали посредством окраски ЭСК трипановым синим (0,02%-й раствор). Процент жизнеспособных клеток рассчитывали как отношение количества неокрашенных клеток к общему количеству клеток, умноженному на 100.

Эффективность трансфекции оценивали по наличию в клетках β -галактозидазы – продукта экспрессии гена *lacZ E. coli*. Для этого использовали в качестве субстрата X-gal (Sigma-Aldrich, США). Перед окраской клетки фиксировали на льду холодным метанолом (–20 °С) в течение 15 мин. Долю окрашенных в сине-зеленый цвет клеток (продуцирующих β -галактозидазу) рассчитывали при анализе не менее 1000 клеток. В качестве отрицательного контроля служили нетрансфицированные ЭСК.

Визуализацию клеток проводили с помощью инвертированного фазово-контрастного микроскопа фирмы Carl Zeiss (Германия) и программного обеспечения AxioVision Rel. 4.8. Эксперименты имели трехкратную повторяемость. Приведены значения среднего арифметического (m) и стандартной ошибки среднего (SEM).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведен ряд экспериментов по введению экзогенной ДНК плазмиды, которая содержит маркерный ген *lacZ E. coli*, в ЭСК мыши посредством электропорации на предназначенном для клеток млекопитающих приборе Neon® Transfection System со стартовым набором реагентов. Для электропорации использовали два набора параметров, рекомендованных производителем для трансфекции ЭСК мыши (протоколы № 5 и 8 в таблице). Дополнительно был протестирован ряд комбинаций напряжения (1000, 1300, 1400 или 1500 V), длительности импульса (10, 20, 30, 40 ms) и числа импульсов (1–3), как указано в таблице. Для оптимизации условий использовали разные клеточные концентрации: $0,5 \times 10^5$ или $1,0 \times 10^5$ клеток в 10 мкл.

Таблица

Оптимизация параметров электропорации эмбриональных стволовых клеток мыши линии D3 в наконечнике 10 мкл (Neon)

Table

Optimization of conditions for electroporation of D3 mouse embryonic cell line in 10 μ l tip (Neon)

№ протокола	Импульсное напряжение, V	Ширина импульса, ms	Количество импульсов	Эффективность трансфекции/ жизнеспособность, % (m $\pm$ SEM)	
				концентрация клеток $0,5 \times 10^5$	концентрация клеток $1,0 \times 10^5$
1	1000	10	3	29 $\pm$ 0,1/70 $\pm$ 0,04	39 $\pm$ 0,01/83 $\pm$ 0,5
2	1000	20	2	37 $\pm$ 0,6/77 $\pm$ 0,05	39 $\pm$ 0,5/79 $\pm$ 0,1
3	1000	40	1	37 $\pm$ 0,7/64 $\pm$ 0,3	37 $\pm$ 0,01/68 $\pm$ 0,7
4	1200	10	3	74 $\pm$ 0,02/86 $\pm$ 0,8	88 $\pm$ 0,7/91 $\pm$ 0,04
5	1200	20	2	66 $\pm$ 0,03/87 $\pm$ 0,01	70 $\pm$ 0,6/90 $\pm$ 0,3
6	1200	20	3	65 $\pm$ 0,04/85 $\pm$ 0,1	76 $\pm$ 0,5/89 $\pm$ 0,7
7	1200	40	1	44 $\pm$ 0,5/58 $\pm$ 0,001	57 $\pm$ 0,4/60 $\pm$ 0,3
8	1400	10	3	71 $\pm$ 0,05/70 $\pm$ 0,3	78 $\pm$ 0,1/88 $\pm$ 0,1
9	1400	20	2	68 $\pm$ 0,2/70 $\pm$ 0,5	81 $\pm$ 0,1/90 $\pm$ 0,5
10	1400	20	3	65 $\pm$ 0,4/66 $\pm$ 0,6	70 $\pm$ 0,7/72 $\pm$ 0,6
11	1400	30	3	33 $\pm$ 0,7/59 $\pm$ 0,02	57 $\pm$ 0,4/66 $\pm$ 0,1
11	1500	10	3	26 $\pm$ 0,6/46 $\pm$ 0,3	35 $\pm$ 0,1/48 $\pm$ 0,01
12	1500	40	1	22 $\pm$ 0,07/34 $\pm$ 0,4	34 $\pm$ 0,2/41 $\pm$ 0,2

Из данных, представленных в таблице, видно, что наилучшие результаты получены при использовании протоколов № 4 и 9: эффективность трансфекции была наиболее высокой, и доля окрашенных клеток превышала значения при использовании других параметров электропорации.

Метод демонстрирует воспроизводимость, что определяется путем сравнения эффективности в трех повторных экспериментах. Параметры, которые рекомендует фирма для ЭСК мыши (приведенные в таблице протоколы № 5 и 8), были также эффективными, но уступали прогнозируемым показателям. Так, в руководстве указано, что использование предлагаемых параметров позволяет через 48 ч достичь 79 и 88%-й эффективности трансфекции мышинных ЭСК плазмидой, которая содержит ген *EGFP*, с жизнеспособностью клеток 99 и 96% соответственно протоколам № 5 и 8.

Анализ данных показал, что концентрация клеток в суспензии является одной из наиболее важных переменных, влияющих на эффективность трансфекции на приборе Neon. На основании полученных результатов можно заключить, что при более высокой клеточной концентрации, в нашем случае в два раза, любые испытанные условия электропорации обеспечивают более высокую эффективность трансфекции в диапазоне от 34 до 88%. При использовании более низкой концентрации клеток эти показатели варьируют в пределах от 22 до 74%.

В отличие от стандартных методов электропорации, проводимых в кюветах, в системе Neon используются уникальные реакционные камеры – наконечники Neon, которые обеспечивают высокое электрическое поле для биологического образца. Наконечники позволяют увеличить величину зазора между двумя электродами, сводя тем самым к минимуму площадь поверхности каждого электрода. В результате уменьшаются изменение pH, образование побочных ионов и выделение тепла. Такое решение увеличивает эффективность трансфекции и жизнеспособность клеток, а также обеспечивает эргономичный рабочий процесс. В связи с тем что трансфекция происходит в микрообъеме смеси (буферный раствор, ДНК и клетки), представляло интерес оценить жизнеспособность клеток после электропорации. С клетками, подвергшимися электропорации, манипулировали так же, как и с клетками, не подвергшимися электропорации, которые не получали ни экзогенную ДНК, ни электрический импульс. Результаты показали, что значения жизнеспособности ЭСК (концентрация клеток $1,0 \times 10^5$) после трансфекции при использовании параметров протоколов № 4, 5, 6, 8, 9 (табл.) были сопоставимы со значениями в контроле $95 \pm 0,2\%$ (ЭСК без электропорации) и составляли 91, 90, 89, 88 и 90% соответственно. Наилучшая жизнеспособность клеток (91%) была достигнута при использовании следующих значений параметров: напряжение – 1200 V, ширина импульса – 10 ms и количество импульсов – 3.

Для работы были выбраны ЭСК мыши, которые перспективны для создания модельной лабораторной системы для изучения вирусной инфекции [12] и являлись immortalized клетками, т. е. бессмертными в культуре. В предыдущих экспериментах удалось ввести ген *lacZ* *E. coli* в составе плазмиды pCMV-lacZ в данные клетки на приборе Gene Pulser (Bio-Red, США) с эффективностью трансфекции 35% [8]. При этом максимальное число выживших клеток после электро-

порации составляло 82%. Сравнение эффективности электропорации эмбриональных стволовых клеток мыши D3 на приборе Neon (от 34 до 88%) выявило преимущество электропоратора нового поколения, в котором трансфекция происходит в наконечниках. Следует отметить, что система Neon позволяет использовать очень маленькие объемы для трансфекции, миниатюризирована для использования наконечников для электропорации и объемов трансфекции 10 или 100 мкл.

В опыте удалось ввести экзогенную ДНК плазмиду pCDNATM3.1/His/lacZ в ЭСК мыши с эффективностью трансфекции 88%, изменив параметры электропорации. Накапливаются данные об эффективности введения экзогенных РНК [13–15], ДНК и белков в некомпетентные к поглощению чужеродного материала клетки с помощью электропоратора Neon [16–18]. Полученные в эксперименте данные согласуются с этими сообщениями, однако перед трансфекцией требуется оценка качества клеток и оптимизация параметров для каждой культуры клеток. Различия, отмеченные в протоколах электропорации, опубликованных в научной литературе [9, 10, 16], позволяют предположить, что даже незначительные изменения условий роста клеток могут оказать существенное влияние на введение экзогенной ДНК в них.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные в эксперименте результаты показывают, что, имея предварительную информацию о режимах электропорации аналогичного типа клеток, которую рекомендует производитель, можно подобрать экспериментальным путем более оптимальные условия. Продемонстрировано, что электропорация может быть очень эффективным методом введения нуклеиновых кислот в представляющие интерес клетки, в том числе в те, которые часто считаются трудными для трансфекции. Высокая эффективность трансфекции для клеток, описанных в данной работе, была достигнута путем оптимизации и определения параметров электропорации на приборе Neon. Установлено, что наиболее подходящими параметрами для эмбриональных стволовых клеток мыши линии D3 являются: импульсное напряжение – 1200 V, ширина импульса – 10 ms, количество импульсов – 3, при которых жизнеспособность клеток после электропорации составляет 91%, а эффективность временной трансфекции (24 ч после электропорации), которую оценивали по продукции бактериального белка β -галактозидазы, – 88%.

Анализ полученных результатов указывает на необходимость подбора оптимальных условий электропорации мышинных ЭСК линии D3 из-за особенностей их поведения в культуре. Как показано в опыте, концентрация клеток в суспензии является одной из наиболее важных переменных, влияющих на эффективность трансфекции в оптимизированных условиях электропорации. По итогам проведенной работы можно сделать заключение, что при более высокой клеточной концентрации, в нашем случае в два раза, любые испытанные режимы электропорации обеспечивают более высокую эффективность трансфекции в диапазоне от 34 до 88%.

Наилучшие условия электропорации для любого типа клеток могут быть получены при использовании системы, которая позволяет регулировать параметры, включая форму волны, напряжение, а также клеточную плотность, что может существенно влиять как на

вита́льность клеток после действия электрического тока, так и эффективность трансфекции. Изменяя эти показатели, можно добиться увеличения доли жизнеспособных клеток (сопоставимо значениям в контроле, т. е. нетрансфицированным клеткам) или же более высокой эффективности трансфекции. Продemonстрировано, что для введения ДНК плазмиды с геном *lacZ* *E. coli* в ЭСК линии D3 из 12 изученных протоколов с разными параметрами можно успешно использовать 5. Таким образом, на электропораторе Neon® Transfection System (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США) можно подобрать условия, наиболее подходящие для создания клеток с заданными свойствами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Evans M. J., Kaufman M. H. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature*. 1981; 292 (5819): 154–156. DOI: 10.1038/292154a0.
2. Martin G. R. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1981; 78 (12): 7634–7638. DOI: 10.1073/pnas.78.12.7634.
3. Savchenkova I. P., Zinov'eva N. A., Bulla Y., Brem G. Embryonic stem cells, their genetic change by a homologous recombination and use in receiving transgene animals. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 1996; 116 (1): 78–92. (in Russ.)
4. Savchenkova I. P., Sergeev N. I. Vvedenie jekzogennoj DNK plazmid v kul'turu kletok sel'skokhozjajstvennykh zhivotnykh = Insertion of exogenous DNA plasmid in livestock animal cell culture. *Doklady Rossijskoi akademii sel'skokhozjajstvennykh nauk*. 1994; 6: 26–28. eLIBRARY ID: 22275920. (in Russ.)
5. Shi J., Ma Y., Zhu J., Chen Y., Sun Y., Yao Y., et al. Electroporation-based intracellular delivery. *Molecules*. 2018; 23 (11):3044. DOI: 10.3390/molecules23113044.
6. Villemejane J., Mir L. M. Physical methods of nucleic acid transfer: general concepts and applications. *British J. Pharmacol.* 2009; 157 (2): 207–219. DOI: 10.1111/j.1476-5381.2009.00032.x.
7. Chong Z. X., Yeap S. K., Ho W. Y. Transfection types, methods and strategies: a technical review. *PeerJ*. 2021; 9:e11165. DOI: 10.7717/peerj.11165.
8. Savchenkova I. P. Введение гена *lac-Z E. coli* в эмбриональные стволовые клетки мыши D3 электропорацией. *Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук*. 1996; 6: 36–37. eLIBRARY ID: 22272344.
9. Moore J. C., Atze K., Yeung P. L., Toro-Ramos A. J., Camarillo C., Thompson K., et al. Efficient, high-throughput transfection of human embryonic stem cells. *Stem Cell Res. Ther.* 2010; 1 (3):23. DOI: 10.1186/scrt23.
10. Covello G., Siva K., Adami V., Denti M. A. An electroporation protocol for efficient DNA transfection in PC12 cells. *Cytotechnology*. 2014; 66 (4): 543–553. DOI: 10.1007/s10616-013-9608-9.
11. Kim J. A., Cho K., Shin M. S., Lee W. G., Jung N., Chung C., Chang J. K. A novel electroporation method using a capillary and wire-type electrode. *Biosens. Bioelectron.* 2008; 23 (9): 1353–1360. DOI: 10.1016/j.bios.2007.12.009.
12. Savchenkova I. P., Алексеенкова С. В., Юров К. П. Эмбриональные стволовые клетки мыши – перспективный материал для изучения вируса инфекционной анемии лошадей *in vitro* и *in vivo*. *Вопросы вирусологии*. 2016; 61 (3): 107–111. DOI: 10.18821/0507-4088-2016-61-3-107-111.
13. Gardner C. L., Trobaugh D. W., Ryman K. D., Klimstra W. B. Electroporation of alphavirus RNA translational reporters into fibroblastic and myeloid cells as a tool to study the innate immune system. *Methods Mol. Biol.* 2016; 1428: 127–137. DOI: 10.1007/978-1-4939-3625-0_8.
14. Slanina H., Schmutzler M., Christodoulides M., Kim K. S., Schubert-Unkmeir A. Effective plasmid DNA and small interfering RNA delivery to diseased human brain microvascular endothelial cells. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 2012; 22 (4): 245–257. DOI: 10.1159/000342909.
15. Yunus M. A., Chung L. M., Chaudhry Y., Bailey D., Goodfellow I. Development of an optimized RNA-based murine norovirus reverse genetics system. *J. Virol. Methods*. 2010; 169 (1): 112–118. DOI: 10.1016/j.jviromet.2010.07.006.
16. Eghbalsaid S., Hyder I., Kues W. A. A versatile bulk electrotransfection protocol for murine embryonic fibroblasts and iPS cells. *Sci. Rep.* 2020; 10 (1):13332. DOI: 10.1038/s41598-020-70258-w.
17. Brees C., Fransen M. A cost-effective approach to microporate mammalian cells with the Neon Transfection System. *Anal. Biochem.* 2014; 466: 49–50. DOI: 10.1016/j.ab.2014.08.017.
18. Yu L., Reynaud F., Falk J., Spencer A., Ding Y. D., Baumlé V., et al. Highly efficient method for gene delivery into mouse dorsal root ganglia neurons. *Front. Mol. Neurosci.* 2015; 8:2. DOI: 10.3389/fnmol.2015.00002.

Поступила в редакцию / Received 12.04.2022

Поступила после рецензирования / Revised 19.04.2022

Принята к публикации / Accepted 23.05.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Савченкова Ирина Петровна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории стволовой клетки ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, Россия.

Савченкова Ангелина Александровна, студент 4-го курса факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина, г. Москва, Россия.

Irina P. Savchenkova, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Stem Cell Laboratory, FSC VIEV, Moscow, Russia.

Angelina A. Savchenkova, 4th year student of the Faculty of Veterinary Medicine, Moscow SAVMB, Moscow, Russia.

ЖУРНАЛ «ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ» ПРИГЛАШАЕТ АВТОРОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ СВОИХ НАУЧНЫХ РАБОТ

- Журнал основан в 2012 г. на базе ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных».
- Статьи публикуются на двух языках: русском и английском.
- Основными направлениями являются результаты теоретических и экспериментальных исследований в области ветеринарии и ветеринарной микробиологии, тенденций развития ветеринарной науки, обсуждение актуальных вопросов в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных.
- Журнал распространяется по всей территории России, а также в крупнейших мировых научных центрах.
- Мы публикуем статьи как выдающихся, так и молодых ученых, специалистов-практиков, работников ветеринарных учреждений для обмена опытом, обеспечения устойчивого ветеринарного благополучия и новых научных дискуссий.

ЗАДАЧИ ЖУРНАЛА

- Изучение основных тенденций развития ветеринарной науки.
- Анализ широкого круга передовых технологий в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных, представление результатов теоретических и экспериментальных исследований в данной области.
- Обсуждение актуальных вопросов ветеринарии.

ПОДРОБНЕЕ ОБ УСЛОВИЯХ ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ ВЫ МОЖЕТЕ УЗНАТЬ В НАШЕЙ РЕДАКЦИИ

Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец

Телефоны: +7 (4922) 26-15-12, 26-17-65, 26-19-88, доб. 22-27

Контактное лицо: Никешина Татьяна Борисовна,
e-mail: nikeshina@arriah.ru

Узнайте больше на сайте журнала
<http://veterinary.arriah.ru/jour/index>

**«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.



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
FGBI "FEDERAL CENTRE FOR ANIMAL HEALTH" (FGBI "ARRIAH")

**РЕГИОНАЛЬНАЯ РЕФЕРЕНТНАЯ
ЛАБОРАТОРИЯ МЭБ
ПО ЯЩУРУ**

OIE REGIONAL REFERENCE LABORATORY
FOR FOOT AND MOUTH DISEASE

**РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ МЭБ
ПО ВЫСОКОПАТОГЕННОМУ И НИЗКОПАТОГЕННОМУ
ГРИППУ ПТИЦ И НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ**

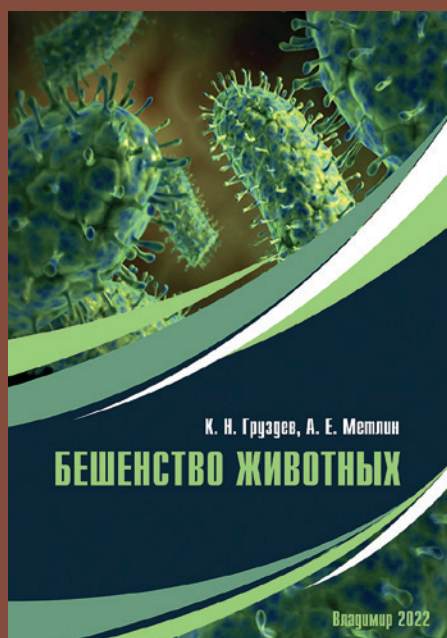
OIE REFERENCE LABORATORY FOR HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA
AND LOW PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA (POULTRY) AND NEWCASTLE DISEASE

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» издана монография

Груздев К. Н., Метлин А. Е. Бешенство животных. 2-е изд., перераб. и доп.

Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2022. 442 с.: ил.

ISBN 978-5-907383-77-7



Во втором издании монографии обобщены и дополнены современные достижения отечественных и зарубежных исследователей в области актуальной проблемы – бешенства животных, включающие сведения об истории заболевания, открытии и биологии вируса бешенства, экологии и эпизоотологии заболевания, лабораторной диагностике и специфической профилактике. Научные материалы, полученные авторами в процессе экспериментально-аналитического изучения бешенства, оригинальны, актуальны и приоритетны. Показано, что для достижения стойкого благополучия по бешенству и снижения экономического ущерба, наносимого этим заболеванием, необходим комплексный подход. Он включает в себя разработку программы борьбы с бешенством животных, схемы лабораторной диагностики, внедрение и оценку эффективности антирабической иммунизации, в том числе оральной, изучение генетических и антигенных свойств вакцинных штаммов, применяемых для профилактики этого заболевания, а также государственный мониторинг бешенства животных. Представлены сведения и основные положения «Комплекса совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 года», который был разработан учеными ФГБУ «ВНИИЗЖ», рассмотрен и утвержден Решением глав правительств Содружества Независимых Государств 1 июня 2018 года в г. Душанбе.

Монография предназначена для широкого круга специалистов: ветеринарных врачей, работников лабораторий, научных сотрудников, преподавателей вузов, аспирантов, студентов, а также любителей животных.