



ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

VETERINARY SCIENCE TODAY

ДЕКАБРЬ | DECEMBER

ТОМ 11 № 4 2022

SCIENTIFIC JOURNAL

ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

**Бактерии рода сальмонелла
в кормах для сельскохозяйственных
животных. Обзор**

стр. 290

**Сравнительный анализ видового
состава и количественное
соотношение микрофлоры
при субклиническом
и клиническом мастите коров**

стр. 296

**Микробиологические
исследования
свежеполученной спермы
быков-производителей
на племпредприятии**

стр. 303

**Молекулярно-генетический
и бактериологический
методы диагностики
микоплазма крупного
рогатого скота**

стр. 335



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

ДЕКАБРЬ ТОМ 11 № 4 2022

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

QUARTERLY SCIENTIFIC JOURNAL

DECEMBER VOLUME 11 No. 4 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

Фото на обложке: wildpixel / iStock

Редакционная коллегия:

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

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

Готов Александр Гаврилович – д-р вет. наук, профессор, ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агроботаники 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 – д-р вет. наук, г. Вена, Австрия, e-mail: metlin@iaea.org; <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>

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

Савченкова Ирина Петровна – д-р биол. наук, профессор, ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3560-5045>; AuthorID: 116034; 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
Редактор-корректор ФГБУ «ВНИИЗЖ»:
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. Юрьеvec, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Издатель: ООО «Вейнард», 129626, г. Москва, проспект Мира, д. 102, стр. 31, комн. 12
Адрес редакции: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьеvec, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Типография: ООО «ГРАН ПРИ», 152900, Ярославская область, г. Рыбинск, ул. Луговая, 7
Подписано в печать: 12 декабря 2022 года
Дата выхода в свет: 30 декабря 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, FGBl "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), FGBl "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 photo: wildpixel / iStock

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), FGBl "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>

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

Alexander V. Kononov – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), FGBl "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@iaea.org; <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>; Scopus Author ID: 6505942586; ResearcherID: Z-2189-2019

Vladimir A. Mischenko – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, FGBl "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, FGBl "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, FGBl "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9560-0724>; Scopus Author ID: 36244177300

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

Vladimir S. Rusaleyev – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, FGBl "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. Sisyagin – 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, FGBl "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), FGBl "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 editor of FGBl "ARRIAH": 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, FGBl "ARRIAH"
Publisher: 000 "Veinard", 129626, Moscow, 102 Prospect Mira, bld. 31, office 12
Editorial Board Office: 600901, Vladimir, Yur'evets, FGBl "ARRIAH"
Printing Office: 000 "Grand Print", 152900, Yaroslavl Oblast, Rybinsk, Lugovaya str., 7
Approved for print: December 12, 2022
Issued: December 30, 2022

Creative Commons Attribution 4.0 License



16+

Содержание

ОБЗОРЫ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

290 Бактерии рода сальмонелла в кормах для сельскохозяйственных животных. Обзор
Н. Б. Шадрова, О. В. Прунтова, Г. С. Скитович, О. А. Акулич

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

296 Сравнительный анализ видового состава и количественное соотношение микрофлоры при субклиническом и клиническом мастите коров
Н. Н. Авдучевская, А. В. Капустин, А. В. Горбатов, Е. В. Иванов

303 Микробиологические исследования свежеполученной спермы быков-производителей на племпредприятии
М. А. Сушкова, И. Я. Строганова, С. А. Счисленко

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БЕШЕНСТВО ЖИВОТНЫХ

309 Возвращение бешенства после многолетнего межэпизоотического периода (Амурская область, Россия)
А. Д. Ботвинкин, И. Д. Зарва, И. В. Мельцов, С. А. Чупин, Е. М. Полещук, Н. Г. Зиняков, С. В. Самохвалов, И. В. Соловей, Н. В. Яковлева, Г. Н. Сидоров, И. А. Бойко, В. Г. Юдин, Е. И. Андаев, А. Е. Метлин

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ЭПИЗООТОЛОГИЯ

319 Эпизоотологические особенности эхинококкоза собак, овец и коз и меры борьбы с ним в условиях Прикаспийского региона России
С. Ш. Кабардиев, А. М. Биттиров, Г. М. Магомедшапиев, З. Г. Мусаев, С. А. Айгубова, Н. Х. Гюльахмедова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

326 Метаболические нарушения как фактор патогенеза инфекционных заболеваний крупного рогатого скота
А. Д. Алексеев

335 Молекулярно-генетический и бактериологический методы диагностики микоплазмоза крупного рогатого скота
Е. В. Ремизова, А. В. Горбатов, Л. К. Сёмина, З. А. Скулябина, Н. В. Шмидт, Г. А. Балдичева, Н. Н. Авдучевская

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

341 Применение полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для изучения ситуации по сенекавирусной инфекции в России
М. В. Тиманов, А. М. Тимина, М. В. Бирюченкова

347 Африканская чума свиней в Приморском крае: эпизоотическая ситуация и молекулярно-биологические свойства изолята, выделенного из трубчатой кости от дикого кабана
А. Р. Шотин, А. С. Иголкин, Али Мазлум, И. В. Шевченко, Н. С. Бардина, Е. О. Морозова, А. А. Шевцов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

359 Результаты экспериментального заражения вакцинированных и невакцинированных утят вирусом гепатита
А. А. Чеснокова, Е. В. Иванова, В. В. Пронин, О. А. Чупина, В. Ю. Фоменко, М. С. Волков, В. Н. Ирза

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БИОТЕХНОЛОГИЯ

367 Иммунобиологические свойства инактивированных вакцин против высокопатогенного гриппа птиц, изготовленных на основе антигенов штаммов вируса гриппа подтипа A/H5N1 различной вирулентности
С. В. Фролов, И. А. Чвала, Н. В. Мороз, В. Ю. Кулаков, В. Ю. Сосипаторова, Д. Б. Андрейчук

ОБЗОРЫ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

375 Перспективы применения токсина *Bacillus anthracis* в терапии онкологических заболеваний
А. П. Родионов, С. В. Иванова, Е. А. Артемьева, Л. А. Мельникова

РЕЦЕНЗИИ

382 Рецензия на монографию К. Н. Груздева, А. Е. Метлина «Бешенство животных». 2-е изд., перераб. и доп. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2022. 442 с.: ил. ISBN 978-5-907383-77-7
В. И. Белоусов

383 Рецензия на монографию К. Н. Груздева, А. Е. Метлина «Бешенство животных». 2-е изд., перераб. и доп. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2022. 442 с.: ил. ISBN 978-5-907383-77-7
О. Ю. Черных

Contents

REVIEWS | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 290** *Salmonella* bacteria in farm animal feeds. Review
N. B. Shadrova, O. V. Pruntova, G. S. Skitovich, O. A. Akulich

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 296** Comparative analysis of species composition and quantitative analysis of udder microflora in cows with subclinical and clinical mastitis
N. N. Avduevskaya, A. V. Kapustin, A. V. Gorbatov, E. V. Ivanov
- 303** Microbiological tests of fresh bull semen collected at breeding establishment
M. A. Sushkova, I. Ya. Stroganova, S. A. Schislenko

ORIGINAL ARTICLES | ANIMAL RABIES

- 309** Rabies re-emergence after long-term disease freedom (Amur Oblast, Russia)
A. D. Botvinkin, I. D. Zarva, I. V. Meltsov, S. A. Chupin, E. M. Poleshchuk, N. G. Zinyakov, S. V. Samokhvalov, I. V. Solovey, N. V. Yakovleva, G. N. Sidorov, I. A. Boyko, V. G. Yudin, E. I. Andaev, A. Ye. Metlin

ORIGINAL ARTICLES | EPIZOOTOLOGY

- 319** Epizootiological characteristics of echinococcosis in dogs, sheep and goats and measures to combat it in Caspian Sea region of Russia
S. Sh. Kabardiev, A. M. Bittirov, G. M. Magomedshapiey, Z. G. Musaev, S. A. Aygubova, N. H. Gulakhmedova

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 326** Metabolic disorders as a factor in pathogenesis of infectious diseases in cattle
A. D. Alekseev
- 335** Molecular genetic and bacteriological methods of bovine mycoplasmosis diagnosis
E. V. Remizova, A. V. Gorbatov, L. K. Semina, Z. A. Skulyabina, N. V. Shmidt, G. A. Baldicheva, N. N. Avduevskaya

ORIGINAL ARTICLES | PORCINE DISEASES

- 341** Use of real-time polymerase chain reaction for investigation of Senecavirus infection occurrence in Russia
M. V. Timanov, A. M. Timina, M. V. Biryuchenkova
- 347** African swine fever in the Primorsky Krai: disease situation and molecular and biological properties of the isolate recovered from a wild boar long bone
A. R. Shotin, A. S. Igolkin, Ali Mazloun, I. V. Shevchenko, N. S. Bardina, E. O. Morozova, A. A. Shevtsov

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

- 359** Results of experimental infection of vaccinated and non-vaccinated ducklings with duck hepatitis virus
A. A. Chesnokova, E. V. Ivanova, V. V. Pronin, O. A. Chupina, V. Yu. Fomenko, M. S. Volkov, V. N. Irza

ORIGINAL ARTICLES | BIOTECHNOLOGY

- 367** Immunobiological properties of inactivated anti-highly pathogenic avian influenza vaccines based on antigens of A/H5N1 avian influenza virus strains of different virulence
S. V. Frolov, I. A. Chvala, N. V. Moroz, V. Yu. Kulakov, V. Yu. Sosipatorova, D. B. Andreychuk

REVIEWS | GENERAL ISSUES

- 375** Prospects for the use of *Bacillus anthracis* toxin in cancer therapy
A. P. Rodionov, S. V. Ivanova, E. A. Artemeva, L. A. Melnikova

PEER REVIEWS

- 382** Peer-review of monograph of K. N. Gruzdev, A. Ye. Metlin "Animal Rabies". 2nd ed., revised and expanded. Vladimir: FGBI "ARRIAH", 2022. 442 p.: fig. ISBN 978-5-907383-77-7
V. I. Belousov
- 383** Peer-review of monograph of K. N. Gruzdev, A. Ye. Metlin "Animal Rabies". 2nd ed., revised and expanded. Vladimir: FGBI "ARRIAH", 2022. 442 p.: fig. ISBN 978-5-907383-77-7
O. Yu. Chernykh



Бактерии рода сальмонелла в кормах для сельскохозяйственных животных. Обзор

Н. Б. Шадрова¹, О. В. Прунтова², Г. С. Скитович³, О. А. Акулич⁴

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

⁴ Управление Россельхознадзора по Владимирской, Костромской и Ивановской областям, г. Владимир, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0001-7510-1269>, e-mail: shadrova@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>, e-mail: pruntova@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-0714-3912>, e-mail: skitovich@arriah.ru

⁴ e-mail: vladvetnadzor@mail.ru

РЕЗЮМЕ

В обзоре представлен анализ данных по исследованию кормов для сельскохозяйственных животных, подготовленный на основании сведений из научных публикаций за период с 1955 по 2020 г. Установлено, что общая комбинированная оценка распространенности выявления сальмонелл составила 0,14 с распространенностью 0,18 в компонентах сырого корма, 0,09 – в готовом корме и 0,08 – в смывах с поверхностей комбикормового оборудования. Вероятность заражения сальмонеллой компонентов сырого корма животного происхождения в 3,9 раза выше, чем компонентов сырого корма растительного происхождения. Отмечена тенденция к сокращению выявления бактерий рода *Salmonella* в сырьевых компонентах кормов, в то время как выявляемость в готовых кормах остается неизменной на протяжении десятилетий. Превалентность сальмонелл при исследовании проб, отобранных с объектов окружающей среды и поверхностей оборудования комбикормовых заводов, составила 0,08. Риск выявления сальмонелл на предприятиях по производству кормов в зоне предтермической обработки был в 1,5 раза выше, чем риск обнаружения в зоне посттермической обработки. При анализе серовариантного состава сальмонелл установлено, что *S. senftenberg*, *S. montevideo*, *S. typhimurium*, *S. anatum*, *S. havana*, *S. enteritidis*, *S. cerro* выделяют повсеместно. Серотип *S. salford* встречается только на территории Африканского континента. При изучении антибиотикорезистентности изолятов сальмонелл отмечена устойчивость к таким препаратам, как цефтриаксон, карбапенем и имипенем, а полногеномное секвенирование показало наличие по крайней мере одного гена антибиотикорезистентности у 40% изолятов сальмонелл, выделенных на заводах по производству комбикормов для свиней.

Ключевые слова: обзор, *Salmonella*, корма для сельскохозяйственных животных, распространенность сальмонелл, антибиотикорезистентность

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

Для цитирования: Шадрова Н. Б., Прунтова О. В., Скитович Г. С., Акулич О. А. Бактерии рода сальмонелла в кормах для сельскохозяйственных животных. Обзор. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 290–295. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-290-295.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Шадрова Наталья Борисовна, кандидат биологических наук, заведующий отделом микробиологических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: shadrova@arriah.ru.

Salmonella bacteria in farm animal feeds. Review

N. B. Shadrova¹, O. V. Pruntova², G. S. Skitovich³, O. A. Akulich⁴

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

⁴ Rosselkhoz nadzor Territorial Administration for Vladimir, Kostroma and Ivanovo Oblasts, Vladimir, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0001-7510-1269>, e-mail: shadrova@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>, e-mail: pruntova@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0003-0714-3912>, e-mail: skitovich@arriah.ru

⁴ e-mail: vladvetnadzor@mail.ru

SUMMARY

This review provides a data analysis of the test results for farm animal feeds. The analysis is based on the articles published from 1955 to 2020. It was found that the overall pooled prevalence estimates of *Salmonella* was 0.14: with a prevalence of 0.18 in raw feed components, 0.09 – in finished feed and 0.08 – in swabs from the surfaces of feed production equipment. The probability of contaminating raw animal feed components with *Salmonella* is 3.9 times higher than that for raw vegetable feeds. There is a tendency for *Salmonella* to be less detected in raw feed components; however, in finished feeds *Salmonella* detectability has remained unchanged for decades. The *Salmonella* prevalence in samples taken from environmental objects and surfaces of feed mill production equipment was 0.08. The risk of *Salmonella* detection at feed mills in the pre-heat treatment zone was 1.5 times higher than the risk of detection in the post-heat treatment zone. The analysis of *Salmonella* serovariants revealed that *S. senftenberg*, *S. montevideo*, *S. typhimurium*, *S. anatum*, *S. havana*, *S. enteritidis*, *S. cerro* are isolated everywhere. The *S. salford* serotype is found only on the African continent. A research into antimicrobial resistance of *Salmonella* isolates demonstrated resistance to such medicinal

products as ceftriaxone, carbapenem and imipenem; and full genome sequencing showed at least one antibiotic resistance gene in 40% of *Salmonella* isolates detected at pig feed production plants.

Keywords: review, *Salmonella*, farm animal feed, *Salmonella* prevalence, antimicrobial resistance

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

For citation: Shadrova N. B., Pruntova O. V., Skitovich G. S., Akulich O. A. *Salmonella* bacteria in farm animal feeds. Review. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 290–295. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-290-295.

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

For correspondence: Natalya B. Shadrova, Candidate of Science (Biology), Head of Department for Microbiological Testing, FGBl "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: shadrova@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Безопасность и качество таких пищевых продуктов, как мясо, молоко и яйца, зависят от безопасности и качества кормов для животных [1]. Промышленные системы животноводства используют рецептурные комбикорма, производимые на коммерческих комбикормовых заводах. Комбикормовая промышленность представляет собой сложную структуру, состоящую из комбикормовых заводов, заводов по переработке крупяного сырья и производству белково-витаминных добавок [2]. Зерно, побочные продукты мукомольного производства, побочные продукты животного происхождения, витаминные и минеральные добавки, а также жиры и масла являются типичными ингредиентами кормов. Патогенные организмы, такие как сальмонелла, могут попасть на комбикормовый завод с сырьевыми компонентами корма, выжить при переработке, заразить сельскохозяйственных животных и далее контаминировать пищевые продукты, потребляемые человеком, что иногда приводит к вспышкам пищевых токсикоинфекций [1, 3–6].

При перемещении кормов и кормовых ингредиентов в рамках внутренней или международной торговли создаются риски для распространения патогенов на новых территориях [7].

Всемирная организация здравоохранения животных признала влияние качества кормов для животных на здоровье людей и животных, посвятив этому вопросу главу Кодекса здоровья наземных животных «Контроль рисков для здоровья животных и значимость кормов для общественного здравоохранения» [7]. Этот раздел дополняется рекомендациями Комиссии Codex Alimentarius, изложенными в «Руководстве по применению оценки риска для кормов» [8].

Цель данной работы состоит в анализе данных научных публикаций о распространенности бактерий рода сальмонелла в комбикормах, а также в характеристике основных серотипов сальмонелл, обнаруживаемых в компонентах сырых кормов, на поверхностях мукомольного оборудования и в готовых кормах.

РИСК, СВЯЗАННЫЙ С ОТБОРОМ ПРОБ, И ВЫЯВЛЯЕМОСТЬ САЛЬМОНЕЛЛ

При проведении исследований по распространенности бактерий рода сальмонелла основной источник систематической ошибки связан с методом отбора проб. На практике очень немногие специалисты при-

меняют процедуру рандомизации для сбора образцов, чаще пробы отбираются исходя из готовности субъектов (комбикормовые заводы, поставщики сырьевых компонентов кормов и розничные торговые точки) принять участие в исследовании.

Parker E. M. et al. оценили источники выявления сальмонелл и рассчитали значение систематической ошибки, связанной с процедурой отбора проб [9]. Davies R. H. and Wray C. установили, что сбор пыли с поверхностей оборудования и объектов окружающей среды комбикормовых заводов может обеспечить репрезентативную выборку материалов, перерабатываемых на предприятии, в части содержания в них сальмонелл [10].

Из-за неравномерности распределения сальмонелл в партии компонентов сырого или готового корма для создания репрезентативной составной пробы требуется несколько подвыборок из случайных мест в партии. D. McChesney et al. [11] с помощью формулы:

$$\frac{\ln(a)}{\ln(q)} = n,$$

где n – количество проб;

a – (1 – доверительный интервал);

q – (1 – ожидаемая превалентность),

рассчитали, что для проведения испытания требуется отобрать 30 проб, чтобы с 95%-й вероятностью обнаружить сальмонеллы в партии корма при условии заражения патогеном 10% партии корма:

$$\frac{\ln(0,5)}{\ln(0,9)} = 30.$$

На основе данной формулы E. M. Parker et al. для выявления сальмонелл определили показатель «вероятности обнаружения» (DP , detection probability) для каждого исследования, который рассчитывался исходя из количества проб, собранных для формирования составной выборки для проведения микробиологического анализа [9]:

$$1 - e^{\ln(q) \times n} = DP.$$

Например, если для создания составной выборки из большого количества корма были отобраны четыре пробы, показатель DP будет равен:

$$1 - e^{\ln(0,9) \times 4} = 0,34.$$

То есть вероятность обнаружения сальмонелл составит 0,34, если они присутствуют в 10% партии, тогда как для 95%-й достоверности выявления бактерий необходимо отобрать 60 проб, и это при условии, что только 5% партии загрязнены. На практике немногие исследователи отбирают такое количество проб. Таким образом, сообщаемая распространенность заражения сальмонеллой в готовых кормах часто является недооценкой истинной распространенности.

По данным E. M. Parker et al., показатель выявления сальмонелл во всех типах образцов с 1955 по 2020 г. составил 0,14 (0,11–0,17) при доверительном интервале, равном 95%. Было отмечено отсутствие влияния региона отбора образцов на распространение сальмонелл. Однако с течением времени наблюдалось снижение распространенности бактерий рода сальмонелла в сырье для комбикормов [9].

Ряд авторов связывают тенденцию к сокращению выявления сальмонелл в комбикормовом сырье с внедрением на предприятиях по производству кормов принципов надлежащей производственной практики (GMP), которые включают мониторинг микробной обсемененности сырья и готового продукта [12–14]. Однако, несмотря на все усилия по оценке условий производства, показатель превалентности (отношение количества положительных проб к количеству отобранных образцов) сальмонелл в готовых кормах остается в течение десятилетий на уровне 0,09 [9].

САЛЬМОНЕЛЛА В СЫРЬЕВЫХ КОМПОНЕНТАХ КОРМА

Общая распространенность обнаружения сальмонелл в сырье для комбикорма была рассчитана E. M. Parker et al. на основании 67 исследований и составила 0,18 (0,13–0,22) при уровне значимости 0,95 [10]. Авторы ряда работ сравнивали распространенность бактерий рода сальмонелла среди животных и растительных компонентов и установили, что риск обнаружения сальмонелл в составляющих сырого корма животного происхождения был в 3,9 раза выше, чем риск выявления в компонентах сырого корма растительного происхождения (2,5–6,1 при 95%-м доверительном интервале; $P < 0,001$) [15–23].

САЛЬМОНЕЛЛА В ГОТОВОМ КОРМЕ

При анализе опубликованных данных по обнаружению сальмонелл в готовых кормах была рассчитана величина выявления бактерий, которая составила 0,09 (0,06–0,11; 95%-й доверительный интервал), то есть в 2 раза ниже, чем в кормовом сырье. Исследователи отмечают, что не было никакой разницы в риске обнаружения сальмонеллы в корме для жвачных по сравнению с кормом для животных с однокамерным желудком (свиньи, птица) [3, 15, 16, 24–29].

САЛЬМОНЕЛЛА НА ПОВЕРХНОСТИ ОБОРУДОВАНИЯ КОМБИКОРМОВОГО ЗАВОДА И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Отбор проб из окружающей среды комбикормового завода и с поверхностей оборудования является чувствительным методом обнаружения сальмонелл [1, 30–33]. Производители комбикорма ограничивают применение жидких дезинфицирующих средств в рамках защиты окружающей среды

и оборудования на комбикормовом заводе [34]. Поэтому тщательная очистка оборудования и производственных помещений зависит от таких процессов, как физическое соскабливание для удаления органических веществ и удаление пыли. Пыль на оборудовании и вокруг него может служить удобным объектом для исследований [10, 35]. Как показывают результаты, полученные рядом авторов, выявляемость сальмонеллы на поверхности оборудования комбикормовых заводов и в окружающей их среде составляет 0,08 (0,05–0,14 при 95%-м доверительном интервале). Было установлено, что риск обнаружения сальмонелл в зоне предтермической обработки в 1,5 раза (1,03–2,17 при доверительном интервале 95%) превышал риск выявления в зоне посттермической обработки комбикормового сырья [3, 16, 26, 36–39].

Основным источником загрязнения окружающей среды и оборудования завода является попадание зараженных сырьевых компонентов корма. Таким образом, в рамках риск-ориентированного подхода целесообразно предполагать, что все сырьевые ингредиенты корма заражены, поэтому необходимо осуществлять систему контроля микробиологической безопасности, опираясь на это предположение [35]. Кроме того, сальмонелла, находясь в составе корма, богатого жиром и с низкой активностью воды, может пережить стадию тепловой обработки, перейти в фазу роста в теплых и влажных условиях и сформировать биопленки на поверхностях оборудования, которые потенциально могут стать источником заражения корма [40–42].

Надлежащая производственная практика на комбикормовом заводе основывается на разделении на зоны, в которых хранятся и обрабатываются сырьевые компоненты корма (грязная зона), и зоны фасовки кормов (чистая зона) [28]. Это влечет за собой контроль потока персонала, оборудования и воздуха из грязных в чистые зоны предприятия.

СЕРОВАРИАНТНЫЙ СОСТАВ ИЗОЛЯТОВ САЛЬМОНЕЛЛ

За период с 1955 по 2020 г. в научной литературе описано выявление 19 690 изолятов *Salmonella* из кормов и кормовых компонентов, среди которых было установлено 334 различных серотипа. Основные выявляемые серотипы обобщены в таблице. Из данных, представленных в ней, следует, что большинство серотипированных изолятов было изучено в странах Европы (59%). На долю изолятов, выделенных из кормов на территории стран Американского континента, приходится 17%, Африки – 12%, Западно-Тихоокеанского региона – 10%, Восточного Средиземноморья – 0,8%, Юго-Восточной Азии – 0,7%. Но, несмотря на значительную диспропорцию в данных по серотипированию сальмонелл в лабораториях различных стран, такие сероварианты, как *S. senftenberg* (11% от общего количества серотипированных изолятов), *S. montevideo* (3,8%), *S. typhimurium* (3,7%), *S. anatum* (3,4%), *S. havana* (1,6%), *S. enteritidis* (1,3%), *S. cerro* (0,97%), встречаются на всех континентах. При этом выявление серотипа *S. salford* зафиксировано только на Африканском континенте.

Бактерии *S. typhimurium* широко распространены во всем мире и чаще всего обнаруживаются у свиней и в продуктах из свинины, тогда как *S. enteritidis* выявляют у домашней птицы, а *S. anatum* – в говядине. Такие серотипы, как *S. agona*, *S. montevideo* и *S. infantis*,

Таблица

Серотипы *Salmonella*, выделенные из кормов, кормовых компонентов, оборудования и объектов окружающей среды комбикормовых заводов за период с 1955 по 2020 г. (по данным E. M. Parker et al. [9])

Table

Salmonella serotypes isolated from feed, feed components, equipment and environmental objects of feed mills, from 1955 to 2020

(according to E. M. Parker et al. [9])

№ п/п	Серотип	Количество выявленных изолятов по регионам						
		Всего	Европа	Америка	Западно-Тихоокеанский (Китай, Япония, Корея, Новая Зеландия, Австралия Монголия, Вьетнам)	Восточное Средиземноморье (Афганистан, Египет, Иран, Ирак, Марокко, Сирия, Пакистан, Тунис)	Юго-Восточная Азия (Бангладеш, Индия, Непал, Таиланд, Индонезия)	Африка
1	<i>S. mbandaka</i>	2348	2035	126	111	0	2	74
2	<i>S. senftenberg</i>	2187	1671	285	184	4	7	36
3	<i>S. tennessee</i>	2072	1748	133	183	5	3	0
4	<i>S. agona</i>	1374	1179	56	136	0	3	0
5	<i>S. montevideo</i>	758	376	327	10	6	2	37
6	<i>S. typhimurium</i>	734	551	45	61	5	33	39
7	<i>S. anatum</i>	676	268	146	206	3	9	39
8	<i>S. infantis</i>	522	298	87	61	0	1	71
9	<i>S. binza</i>	506	250	127	3	2	0	0
10	<i>S. salford</i>	458	0	0	0	0	0	458
11	<i>S. schwarzengrund</i>	360	65	55	8	0	3	229
12	<i>S. cubana</i>	325	147	134	43	1	0	0
13	<i>S. havana</i>	323	157	21	84	2	4	55
14	<i>S. livingstone</i>	298	184	62	43	9	0	0
15	<i>S. enteritidis</i>	255	197	16	31	1	4	6
16	<i>S. orion</i>	228	21	49	77	0	3	78
17	<i>S. cerro</i>	191	14	121	40	5	1	10
18	<i>S. oranienburg</i>	190	44	114	20	0	0	12
19	<i>S. eimsbuettel</i>	188	13	134	41	0	0	0
20	<i>S. bredeney</i>	183	46	123	13	1	0	0
Всего серотипированных изолятов		19 690	11 664	3379	2011	160	140	2331

также входят в десятку наиболее часто регистрируемых серотипов, выявляемых в пищевых продуктах животного происхождения, и также связаны с болезнями пищевого происхождения у людей [43, 44]. *S. enteritidis* является наиболее часто встречающимся серотипом сальмонеллы, имеющим значение для общественного здравоохранения в США и Европе, и вторым в Австралии [45]. Таким образом, серовариантный пейзаж сальмонелл, установленный для кормов, соответствует разнообразию основных серотипов, выявляемых при исследовании продукции животноводства и расследовании случаев сальмонеллеза у людей.

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ САЛЬМОНЕЛЛ

В научной литературе представлена информация о тестировании чувствительности к противомикробным препаратам 1735 изолятов сальмонелл, выделен-

ных из корма [27, 46–51]. Сообщается, что среди изолятов, выделенных на Африканском континенте, 75% были устойчивы к цефтриаксону, цефалоспорины третьего поколения, обычно используемому для лечения тяжелых случаев сальмонеллеза у людей [52, 53].

Есть мнение, что применение цефалоспоринов в животноводстве и здравоохранении создает благоприятные конкурентные условия для микроорганизмов, устойчивых к карбапенемам [54]. Были сообщения о выявлении изолятов, устойчивых к карбапенему и имипенему, которые признаны последним средством для лечения некоторых бактериальных инфекций, а резистентность к карбапенемам считается серьезной проблемой общественного здравоохранения [55]. Полногеномное секвенирование изолятов *Salmonella*, обнаруженных на заводах по производству комбикормов для свиней, показало, что 40% из них имеют по крайней мере один ген антибиотикорезистентности [56].

Эти результаты указывают на возможность распространения микроорганизмов, устойчивых к антибактериальным препаратам, среди животных через корм и его компоненты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Контаминация бактериями рода *Salmonella* при промышленном производстве кормов остается значимой проблемой ветеринарии и общественного здравоохранения.

Совокупная распространенность выявления сальмонелл в комбикормовой промышленности снизилась с 1955 г., что связано с сокращением частоты встречаемости бактерий в сырьевых компонентах кормов. Выявляемость сальмонелл в готовых кормах, на поверхностях мукомольного оборудования и объектов окружающей среды за 50 лет наблюдений не изменилась. Микробиологический контроль на комбикормовом производстве должен включать забор образцов из окружающей среды в дополнение к пробам компонентов сырого и готового корма. Образцы пыли и комбикормов, отобранные с поверхностей мельничного оборудования и вокруг него, являются удобным объектом для исследования, обеспечивающим чувствительность метода выявления сальмонелл. Количество проб, отобранных из кормов и сырьевых компонентов, должно основываться на расчетах размера выборки, которые включают желаемый уровень достоверности и расчетный уровень загрязнения. Серотипы сальмонелл, выявляемые из образцов, отобранных на комбикормовых заводах с оборудования, из проб комбикорма и сырьевых компонентов кормов, представлены серотипами, которые обнаруживают у сельскохозяйственных животных и в случаях сальмонеллеза у людей.

Среди изолятов сальмонелл, выделяемых из проб корма, обнаруживают бактерии, устойчивые к современным антибактериальным препаратам, которые, по классификации Всемирной организации здравоохранения, являются «критически важными» для медицинского применения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Crump J. A., Griffin P. M., Angulo F. J. Bacterial contamination of animal feed and its relationship to human foodborne illness. *Clin. Infect. Dis.* 2002; 35 (7): 859–865. DOI: 10.1086/342885.
- Sapkota A. R., Lefferts L. Y., McKenzie S., Walker P. What do we feed to food production animals? A review of animal feed ingredients and their potential impacts on human health. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115 (5): 663–670. DOI: 10.1289/ehp.9760.
- Parker E. M., Edwards L. J., Mollenkopf D. F., Ballash G. A., Wittum T. E., Parker A. J. *Salmonella* monitoring programs in Australian feed mills: a retrospective analysis. *Aust. Vet. J.* 2019; 97 (9): 336–342. DOI: 10.1111/avj.12851.
- Selim S. A., Cullor J. S. Number of viable bacteria and presumptive antibiotic residues in milk fed to calves on commercial dairies. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1997; 211 (8): 1029–1035. PMID: 9343549.
- Shariat N. W., Larsen B. R., Schaeffer Ch., Richardson K. E. Animal feed contains diverse populations of *Salmonella*. *J. Appl. Microbiol.* 2022; 132 (6): 4476–4485. DOI: 10.1111/jam.15525.
- O'Connor A. M., Denagamage T., Sargeant J. M., Rajić A., McKean J. Feeding management practices and feed characteristics associated with *Salmonella* prevalence in live and slaughtered market-weight finisher swine: a systematic review and summation of evidence from 1950 to 2005. *Prev. Vet. Med.* 2008; 87 (3–4): 213–228. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2008.06.017.
- The Control of Hazards of Animal Health and Public Health Importance in Animal Feed. In: *World Organisation for Animal Health. Terrestrial Animal Health Code.* 2022; Vol. 1, Chapter 6.4. Режим доступа: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahc/current/chapitre_control_feed_hazard.pdf.
- FAO/WHO Codex Alimentarius. CAC/GL 80-2013 Guidelines on the Application of Risk Assessment for Feed. 2013. Режим доступа: <http://www.fao.org/feed-safety/resources/resources-details/fr/c/1054051>.
- Parker E. M., Parker A. J., Short G., O'Connor A. M., Wittum T. E. *Salmonella* detection in commercially prepared livestock feed and the raw ingredients and equipment used to manufacture the feed: A systematic review and meta-analysis. *Prev. Vet. Med.* 2022; 198:105546. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2021.105546.
- Davies R. H., Wray C. Distribution of *Salmonella* contamination in ten animal feedmills. *Vet. Microbiol.* 1997; 57 (2–3): 159–169. DOI: 10.1016/S0378-1135(97)00114-4.
- McChesney D. G., Kaplan G., Gardner P. FDA survey determines *Salmonella* contamination. *Feedstuffs.* 1995; 67: 20–23.
- Food and Drug Administration. Current Good Manufacturing Practice and Hazard Analysis and Risk-based Preventive Controls for Food for Animals. No. FDA-2011-N-0922. Режим доступа: <https://www.fda.gov/media/86635/download>.
- American Feed Industry Association. Safe Feed/Safe Food Certification Program. Режим доступа: <https://www.afia.org/issues/feed-food-safety/safe-feed-safe-food-certification>.
- Leiva A., Granados-Chinchilla F., Redondo-Solano M., Arrieta-González M., Pineda-Salazar E., Molina A. Characterization of the animal by-product meal industry in Costa Rica: Manufacturing practices through the production chain and food safety. *Poult. Sci.* 2018; 97 (6): 2159–2169. DOI: 10.3382/ps/pey058.
- Li X., Bethune L. A., Jia Y., Lovell R. A., Proescholdt T. A., Benz S. A., et al. Surveillance of *Salmonella* prevalence in animal feeds and characterization of the *Salmonella* isolates by serotyping and antimicrobial susceptibility. *Foodborne Pathog. Dis.* 2012; 9 (8): 692–698. DOI: 10.1089/fpd.2011.1083.
- Davies R. H., Wales A. D. Investigations into *Salmonella* contamination in poultry feedmills in the United Kingdom. *J. Appl. Microbiol.* 2010; 109 (4): 1430–1440. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2010.04767.x.
- Davies R. H., Wales A. D. *Salmonella* contamination of cereal ingredients for animal feeds. *Vet. Microbiol.* 2013; 166 (3–4): 543–549. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.07.003.
- Durand A. M., Giesecke W. H., Barnard M. L., Walt M. L., Steyn H. C. *Salmonella* isolated from feeds and feed ingredients during the period 1982–1988: animal and public health implications. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 1990; 57 (3): 175–181. PMID: 2234864.
- Hsieh Y. C., Lee K. M., Poole T., Runyon M., Jones B., Herrman T. J. Detection and isolation of *Salmonella* spp. in animal feeds from 2007–2011. *Int. J. Regul. Sci.* 2014; 2 (1): 14–27.
- Jiang X. Prevalence and characterization of *Salmonella* in animal meals collected from rendering operations. *J. Food Prot.* 2016; 79 (6): 1026–1031. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-15-537.
- Kukier E., Kwiatek K. Microbiological quality of feed materials used in Poland. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 2011; 55: 709–715. DOI: 10.2478/bvip-2013-0093.
- Kutay H. C., Dümen E., Keser O., Bilgin Aş., Ergin S., Kocabağlı N. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* in rendered animal products used in poultry feed in Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2016; 22: 909–916. DOI: 10.9775/kvfd.2016.15657.
- MacKenzie M. A., Bains B. Dissemination of *Salmonella* serotypes from raw feed ingredients to chicken carcasses. *Poult. Sci.* 1976; 55 (3): 957–960. DOI: 10.3382/ps.0550957.
- Parker A. J., Parkes R. W., Overend D., Hepworth G. Prevalence of *Salmonella* spp. in feed mills following the introduction of Feedsafe. In: *Australasian Milling Conference (April 14–16, 2008)*. Sydney; 2008; 162–165.
- Shilangale R. P., Di Giannatale E., Chimwamurombe P. M., Kaaya G. P. Prevalence and antimicrobial resistance pattern of *Salmonella* in animal feed produced in Namibia. *Vet. Ital.* 2012; 48 (2): 125–132. PMID: 22718330.
- Torres G. J., Piquer F. J., Algarra L., de Frutos C., Sobrino O. J. The prevalence of *Salmonella enterica* in Spanish feed mills and potential feed-related risk factors for contamination. *Prev. Vet. Med.* 2011; 98 (2–3): 81–87. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2010.11.009.
- Turcu A. A. Characterisation of *Salmonella* isolates from animal feed additives. *Lucrări Ştiinţifice.* 2011; 54 (4): 50–53.
- Wierup M., Kristoffersen T. Prevention of *Salmonella* contamination of finished soybean meal used for animal feed by a Norwegian production plant despite frequent *Salmonella* contamination of raw soy beans, 1994–2012. *Acta Vet. Scand.* 2014; 56 (1): 41. DOI: 10.1186/s13028-014-0041-7.
- Malmqvist M., Jacobsson K. G., Häggblom P., Cerenius F., Sjöland L., Gunnarsson A. *Salmonella* isolated from animals and feedstuffs in Sweden during 1988–1992. *Acta Vet. Scand.* 1995; 36 (1): 21–39. DOI: 10.1186/BF03547700.
- Mørtrø T., Midtgaard E. S., Nesse L. L., Langsrud S. Susceptibility of *Salmonella* isolated from fish feed factories to disinfectants and air-drying at surfaces. *Vet. Microbiol.* 2003; 94 (3): 207–217. DOI: 10.1016/S0378-1135(03)00105-6.

31. Davi M. A., Hancock D. D., Rice D. H., Call D. R., DiGiacomo R., Samadpour M., Besser T. E. Feedstuffs as a vehicle of cattle exposure to *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica*. *Vet. Microbiol.* 2003; 95 (3): 199–210. DOI: 10.1016/s0378-1135(03)00159-7.
32. Nesse L. L., Refsum T., Heir E., Nordby K., Vardund T., Holstad G. Molecular epidemiology of *Salmonella* spp. isolates from gulls, fish-meal factories, feed factories, animals and humans in Norway based on pulsed-field gel electrophoresis. *Epidemiol. Infect.* 2005; 133 (1): 53–58. DOI: 10.1017/s0950268804003279.
33. Maciorowski K. G., Herrera P., Jones F. T., Pillai S. D., Ricke S. C. Cultural and immunological detection methods for *Salmonella* spp. in animal feeds – a review. *Vet. Res. Commun.* 2006; 30 (2): 127–137. DOI: 10.1007/s11259-006-3221-8.
34. Habimana O., Mørsetrø T., Langsrud S., Vestby L. K., Nesse L. L., Heir E. Micro ecosystems from feed industry surfaces: a survival and biofilm study of *Salmonella* versus most resident flora strains. *BMC Vet. Res.* 2010; 6:48. DOI: 10.1186/1746-6148-6-48.
35. Jones F. T. A review of practical *Salmonella* control measures in animal feed. *J. Appl. Poult. Res.* 2011; 20 (1): 102–113. DOI: 10.3382/japr.2010-00281.
36. Jones F. T., Richardson K. E. *Salmonella* in commercially manufactured feeds. *Poult. Sci.* 2004; 83 (3): 384–391. DOI: 10.1093/ps/83.3.384.
37. Magossi G., Cernicchiaro N., Dritz S., Houser T., Woodworth J., Jones C., Trinetta V. Evaluation of *Salmonella* presence in selected United States feed mills. *Microbiologyopen.* 2019; 8 (5):e00711. DOI: 10.1002/mbo3.711.
38. Magossi G., Lambertini E., Noll L., Bai J., Jones C., Nagaraja T. G., et al. Potential risk-factors affecting *Salmonella* sp. and *Escherichia coli* occurrence and distribution in Midwestern United States swine feed mills. *J. Appl. Microbiol.* 2020; 129 (6): 1744–1750. DOI: 10.1111/jam.14758.
39. Whyte P., McGill K., Collins J. D. A survey of the prevalence of *Salmonella* and other enteric pathogens in a commercial poultry feed mill. *Journal of Food Safety.* 2003; 23 (1): 13–24. DOI: 10.1111/j.1745-4565.2003.tb00348.x.
40. Vestby L. K., Mørsetrø T., Langsrud S., Heir E., Nesse L. L. Biofilm forming abilities of *Salmonella* are correlated with persistence in fish meal – and feed factories. *BMC Vet. Res.* 2009; 5:20. DOI: 10.1186/1746-6148-5-20.
41. Lories B., Belpaire T. E. R., Yssel A., Ramon H., Steenackers H. P. Agaric acid reduces *Salmonella* biofilm formation by inhibiting flagellar motility. *Biofilm.* 2020; 2:100022. DOI: 10.1016/j.biofilm.2020.100022.
42. Velmourougane K., Prasanna R., Saxena A. K. Agriculturally important microbial biofilms: present status and future prospects. *J. Basic Microbiol.* 2017; 57 (7): 548–573. DOI: 10.1002/jobm.201700046.
43. Magwedere K., Rauff D., De Klerk G., Keddy K. H., Dziva F. Incidence of nontyphoidal *Salmonella* in food-producing animals, animal feed, and the associated environment in South Africa, 2012–2014. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 61 (Suppl 4): S283–289. DOI: 10.1093/cid/civ663.
44. Ferrari R. G., Rosario D. K. A., Cunha-Neto A., Mano S. B., Figueiredo E. E. S., Conte-Junior C. A. Worldwide epidemiology of *Salmonella* serovars in animal-based foods: a meta-analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 2019; 85 (14):e00591-19. DOI: 10.1128/AEM.00591-19.
45. National Notifiable Diseases Surveillance System (NNDSS) public dataset – *Salmonella* (2009–2021). Режим доступа: <https://www.health.gov.au/resources/publications/nndss-public-dataset-salmonella>.
46. Tate H., Folster J. P., Hsu C. H., Chen J., Hoffmann M., Li C., et al. Comparative analysis of extended-spectrum- β -lactamase CTX-M-65-producing *Salmonella enterica* serovar Infantis isolates from humans, food animals, and retail chickens in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2017; 61 (7):e00488-417. DOI: 10.1128/AAC.00488-17.
47. Hsieh Y. C., Poole T. L., Runyon M., Herrman T. J. Prevalence of nontyphoidal *Salmonella* and *Salmonella* strains with conjugative antimicrobial-resistant serovars contaminating animal feed in Texas. *J. Food Prot.* 2016; 79 (2): 194–204. DOI: 10.4315/0362-028X.JFP-15-163.
48. Ge B., LaFon P. C., Carter P. J., McDermott S. D., Abbott J., Glenn A. Retrospective analysis of *Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus* in animal feed ingredients. *Foodborne Pathog. Dis.* 2013; 10 (8): 684–691. DOI: 10.1089/fpd.2012.1470.
49. Ge B., Domesle K. J., Gaines S. A., Lam C., Bodeis Jones S. M., Yang Q. Prevalence and antimicrobial susceptibility of indicator organisms *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. isolated from US animal food, 2005–2011. *Microorganisms.* 2020; 8 (7):1048. DOI: 10.3390/microorganisms8071048.
50. Agga G. E., Silva P. J., Martin R. S. Prevalence, serotypes, and antimicrobial resistance of *Salmonella* from mink feces and feed in the United States. *Foodborne Pathog. Dis.* 2022; 19 (1): 45–55. DOI: 10.1089/fpd.2021.0037.
51. Su L. H., Chiu C. H., Chu C., Ou J. T. Antimicrobial resistance in nontyphoid *Salmonella* serotypes: a global challenge. *Clin. Infect. Dis.* 2004; 39 (4): 546–551. DOI: 10.1086/422726.
52. Okoli C., Ndujihe G., Ogbuewu I. Frequency of isolation of *Salmonella* from commercial poultry feeds and their anti-microbial resistance profiles, Imo State, Nigeria. *Online J. Health Allied Sci.* 2006; 5 (2):3. Режим доступа: <http://www.ojhas.org/issue18/2006-2-3.htm>.
53. Medalla F., Gu W., Friedman C. R., Judd M., Folster J., Griffin P. M., Hoekstra R. M. Increased incidence of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella* infections, United States, 2004–2016. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27 (6): 1662–1672. DOI: 10.3201/eid2706.204486.
54. Ogunrinu O. J., Norman K. N., Vinasco J., Levent G., Lawhon S. D., Fajt V. R., et al. Can the use of older-generation beta-lactam antibiotics in livestock production over-select for betalactamases of greatest consequence for human medicine? An *in vitro* experimental model. *PLoS One.* 2020; 15 (11):e0242195. DOI: 10.1371/journal.pone.0242195.
55. Infectious Diseases Society of America (IDSA), Spellberg B., Blaser M., Guidos R. J., Boucher H. W., Bradley J. S., et al. Combating antimicrobial resistance: policy recommendations to save lives. *Clin. Infect. Dis.* 2011; 52 (Suppl 5): S397–428. DOI: 10.1093/cid/cir153.
56. Trinetta V., Magossi G., Allard M. W., Tallent S. M., Brown E. W., Lomonaco S. Characterization of *Salmonella enterica* isolates from selected US swine feed mills by whole-genome sequencing. *Foodborne Path. Dis.* 2020; 17 (2): 126–136. DOI: 10.1089/fpd.2019.2701.

Поступила в редакцию / Received 04.08.2022

Поступила после рецензирования / Revised 30.09.2022

Принята к публикации / Accepted 14.11.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шадрова Наталья Борисовна, кандидат биологических наук, заведующий отделом микробиологических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Прунтова Ольга Владиславовна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Скитович Галина Сергеевна, кандидат биологических наук, руководитель Владимирской испытательной лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Акулич Ольга Андреевна, заместитель начальника отдела государственного ветеринарного надзора Управления РСХН по Владимирской, Костромской и Ивановской областям, г. Владимир, Россия.

Natalya B. Shadrova, Candidate of Science (Biology), Head of Department for Microbiological Testing, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Olga V. Pruntova, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Galina S. Skitovich, Candidate of Science (Biology), Head of the Vladimir Testing Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Olga A. Akulich, Deputy Head of the Department of State Veterinary Surveillance in the Rosselkhoz nadzor Territorial Administration for Vladimir, Kostroma and Ivanovo Oblasts, Vladimir, Russia.



Сравнительный анализ видового состава и количественное соотношение микрофлоры при субклиническом и клиническом мастите коров

Н. Н. Авдеевская¹, А. В. Капустин², А. В. Горбатов³, Е. В. Иванов⁴

¹ Вологодский филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко Российской академии наук» (Вологодский филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), г. Вологда, Россия

^{2,3,4} ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. П. Коваленко Российской академии наук» (ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), г. Москва, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-6392-5823>, e-mail: Natali.Avduevskaya@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-0136-2487>, e-mail: kapustin_andrei@mail.ru

³ e-mail: incidentor@yandex.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-6602-5313>, e-mail: doctor2112@yandex.ru

РЕЗЮМЕ

В связи с актуальностью проблемы маститов коров, разнообразием выделяемой при этом заболевании микрофлоры, а также для планирования лечебно-профилактических мероприятий в хозяйствах были проведены исследования по выявлению сходства и различия видового состава микроорганизмов при субклинической и клинической форме воспаления молочной железы, их количественного соотношения, установлению зависимости выделяемой микрофлоры от формы мастита, а также изучению и сравнению ферментативных свойств золотистого стафилококка, выделенного при клиническом и субклиническом мастите. Установлено, что во всех обследованных хозяйствах количество коров и нетелей, больных субклиническими маститами, превышало число животных с клиническими формами воспаления молочной железы. В результате проведения микробиологических исследований 182 проб секрета молочной железы, полученных от больных субклиническими и клиническими формами мастита коров из 13 сельскохозяйственных предприятий Вологодской, Ярославской и Костромской областей, изолировано 70 культур патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Показано, что при субклиническом мастите из молока чаще всего выделяли культуры золотистого стафилококка (17,9% случаев), патогенные стрептококки (9,8% случаев), из них доля *Streptococcus agalactiae* и *Streptococcus dysgalactiae* составила 6,5 и 3,3% соответственно. В равных соотношениях изолированы культуры условно-патогенных стафилококков (6,5%) и энтеробактерий (6,5%). От коров с клиническим маститом культуры золотистого стафилококка были выделены в 16,9% случаев, патогенных стрептококков – в 10,2% случаев, из них доля *Streptococcus agalactiae* и *Streptococcus dysgalactiae* составила 6,8 и 3,4%. Условно-патогенные стафилококки и энтеробактерии обнаружены в равных количествах – по 3,4% случаев. Рост микоплазм на специальных питательных средах при указанных формах мастита не отмечен. Установлено, что при субклинических и клинических формах мастита выделяются идентичные патогенные и условно-патогенные микроорганизмы. Основным возбудителем является *Staphylococcus aureus*, индикация которого при скрытой форме мастита незначительно выше (на 1,0%). За ним следуют *Streptococcus agalactiae* и *Streptococcus dysgalactiae*, обнаружение которых преобладает при клинической форме воспаления молочной железы в среднем на 0,2%. Частота выделения условно-патогенных стафилококков в 1,9 раза выше при субклиническом мастите. Стоит отметить, что при клиническом воспалении молочной железы энтеробактерии обнаруживали только в одном из тринадцати обследованных сельскохозяйственных предприятий.

Ключевые слова: субклинический и клинический маститы, коровы, факторы патогенности, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*

Благодарности: Исследования выполнены в рамках Государственного задания Минобрнауки России по теме № FGUG-2022-0009.

Для цитирования: Авдеевская Н. Н., Капустин А. В., Горбатов А. В., Иванов Е. В. Сравнительный анализ видового состава и количественное соотношение микрофлоры при субклиническом и клиническом мастите коров. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 296–302. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-296-302.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Авдеевская Наталья Николаевна, научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, 160009, Россия, г. Вологда, ул. Чехова, д. 10, e-mail: Natali.Avduevskaya@mail.ru.

Comparative analysis of species composition and quantitative analysis of udder microflora in cows with subclinical and clinical mastitis

Н. Н. Авдеевская¹, А. В. Капустин², А. В. Горбатов³, Е. В. Иванов⁴

¹ Vologda Branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV" (Vologda Branch of the FSC VIEV), Vologda, Russia

© Авдеевская Н. Н., Капустин А. В., Горбатов А. В., Иванов Е. В., 2022

^{2,3,4} Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Centre VIEV" (FSC VIEV), Moscow, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0002-6392-5823>, e-mail: Natali.Avduevskaya@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-0136-2487>, e-mail: kapustin_andrei@mail.ru

³ e-mail: incidentor@yandex.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-6602-5313>, e-mail: doctor2112@yandex.ru

SUMMARY

Due to the great relevance of the problem of mastitis in cows, the diversity of udder microflora in the affected animals, as well as to develop therapeutic and preventive measures on farms, studies were conducted to identify similarities and differences in the species composition of microorganisms in animals with sub-clinical and clinical breast inflammation, their proportion, to establish the correlation between the secreted microflora and the type of mastitis, as well as to study and compare the enzymatic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from animals with clinical and subclinical mastitis. It was found that on all the studied farms the number of cows and heifers with subclinical mastitis exceeded the number of animals with clinical udder inflammation. As a result of microbiological studies of 182 mammary gland secretion samples collected from cows with subclinical and clinical mastitis from 13 agricultural establishments of the Vologda, Yaroslavl and Kostroma regions, 70 cultures of pathogenic and opportunistic microflora were isolated. It was demonstrated that, in case of subclinical mastitis, the following cultures were most often isolated from milk: *Staphylococcus aureus* (17.9% of cases), pathogenic *Streptococcus* (9.8% of cases), of which the proportion of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus dysgalactiae* was 6.5 and 3.3%, respectively. Opportunistic *Staphylococcus* (6.5%) and *Enterobacteria* (6.5%) were isolated in equal proportions. In case of cows with clinical mastitis, *Staphylococcus aureus* was isolated in 16.9% of cases, pathogenic *Streptococcus* – in 10.2% of cases, of which the proportion of *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus dysgalactiae* was 6.8 and 3.4%, respectively. Opportunistic *Staphylococcus* and *Enterobacteria* were found in equal amounts – 3.4% of cases each. No growth of *Mycoplasma* on special nutrient media was registered in both cases. It was established that similar pathogenic and opportunistic microorganisms are isolated from animals with subclinical and clinical mastitis. The main causative agent is *Staphylococcus aureus*, the incidence of which in case of latent mastitis is slightly higher (by 1.0%). It is followed by *Streptococcus agalactiae* and *Streptococcus dysgalactiae*, which are detected more often in case of clinical udder inflammation – by 0.2% on average. The frequency of isolation of opportunistic *Staphylococcus* is 1.9 times higher in case of subclinical mastitis. It is worth noting that with clinical udder inflammation, enterobacteria were detected only at one of the thirteen studied agricultural establishments.

Keywords: subclinical and clinical mastitis, cows, pathogenicity factors, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*

Acknowledgements: The study was carried out within the framework of the State Assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation on the subject No. FGUG-2022-0009.

For citation: Avduevskaya N. N., Kapustin A. V., Gorbатов A. V., Ivanov E. V. Comparative analysis of species composition and quantitative analysis of udder microflora in cows with subclinical and clinical mastitis. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 296–302. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-296-302.

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

For correspondence: Natalia N. Avduevskaya, Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, 160009, Russia, Vologda, ul. Chekhova, 10, e-mail: Natali.Avduevskaya@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Одной из самых серьезных проблем в молочном животноводстве были и остаются маститы. Заболевание широко распространено по всей территории России среди коров разных пород. Клинической и скрытой формами мастита во всех странах мира болеют в среднем от 17 до 20% коров, а в отдельных регионах – 50% и выше.

Экономический ущерб, причиняемый маститами, весьма значителен, что обусловлено потерей продуктивности животных, ухудшением биологических и технологических свойств молока, которое из-за содержания болезнетворных микробов становится к тому же опасным для человека и молодняка сельскохозяйственных животных. Подсчитано, что корова, перенесшая мастит, в текущую лактацию снижает удой на 150–200 кг. С учетом массового охвата поголовья потери из-за мастита в молочной индустрии составляют 10–12% производимой продукции [1].

По данным академика РАСХН Е. С. Воронина [2], мастит по экономическому ущербу, наносимому миро-

вому животноводству, стоит на первом месте среди других незаразных болезней коров.

Независимо от первопричины воспаления молочной железы у коров, в дальнейшем практически в 100% случаев происходит инфицирование органа различной патогенной и условно-патогенной микрофлорой [3]. По информации В. И. Мутовина [4], в 80% случаев при клинических и субклинических маститах обнаруживается микрофлора. В большинстве случаев микробы являются или непосредственными возбудителями мастита и могут самостоятельно вызывать патологию молочной железы, или осложняют его течение, насливаясь на другие этиологические факторы. Микробный фактор может являться главной причиной возникновения вспышек мастита коров на сельскохозяйственных предприятиях.

Наиболее важными и частыми возбудителями мастита являются стафилококки и стрептококки [5–7]. Семина Л. К. и соавт. определили, что наибольший удельный вес в структуре микрофлоры, выделенной в хозяйствах Вологодской области, занимает кокковая

микрофлора – 79,6% от общего количества изолированных культур, причем *Staphylococcus aureus* составил 23,2%, коагулазоотрицательные стафилококки – 30,2%, стрептококки – 26,2%. Доля энтеробактерий оказалась небольшой – 9,2% [7]. Исследованиями Л. Д. Демидовой установлено, что среди кокковой микрофлоры чаще всего выделяют *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* [8]. Данные Г. Н. Кузьмина также свидетельствуют о наибольшем выделении из маститного молока кокковой микрофлоры: *S. aureus* – в 30,5–29,3% случаев, *S. agalactiae* – в 22,0–17,7% случаев, *S. dysgalactiae* – в 16,6–15,9% случаев [9]. Некоторые исследователи обнаруживают в молоке коров микоплазмы [10].

Течение маститов разнообразно, в основном они протекают в двух формах: клинической и субклинической. Клинические маститы проявляются явными признаками воспаления молочной железы, такими как болезненность, отек, температура, а также изменением цвета и консистенции молока. Такое воспаление молочной железы встречается довольно редко и, по данным В. И. Мутвина [4], составляет около 20% от общего количества болезней вымени.

Субклинические маститы протекают скрыто или со слабовыраженными признаками. Наиболее характерными симптомами таких маститов являются постепенное снижение секреции молока в пораженной четверти вымени, появление более жидкого молока, что является основанием для подозрений о наличии заболевания [11]. В молочных хозяйствах скрыто протекающее воспаление молочной железы коров встречается значительно чаще и создает серьезную экономическую проблему. По некоторым данным, субклинический мастит встречается в 4–5 раз чаще, чем клинически выраженный [12]. Маститы, протекающие в субклинической форме, наиболее опасны и являются основной причиной возникновения агалактии и гипогалактии отдельных долей вымени коров, что может привести к утрате молочной продуктивности животных. При поражении субклиническим маститом одной доли вымени от каждой больной коровы недополучают в среднем до 10–15% молока за лактацию [13].

Доказано, что патогенные и условно-патогенные микроорганизмы обнаруживают в молоке коров как при клинической, так и при субклинической форме мастита. По некоторым сообщениям, при клиническом мастите в 90–95% случаев выделяют *S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* [12]; по данным Б. Л. Белкина и соавт. [14], чаще обнаруживают золотистый стафилококк (40,5–48,95%), а при субклиническом мастите – в одинаковой пропорции коагулазоотрицательный и коагулазоположительный стафилококк (*S. aureus*), а также агалактийный стрептококк.

Исследователь М. Roguinsky [15] установил, что в 30% случаев субклинический мастит обусловлен стафилококками, в 62% – стрептококками, в 1% – энтеробактериями.

Мурська С. Д. при проведении исследований определила, что при клинической форме мастита основными возбудителями были *Escherichia coli* – 41,1% и *Staphylococcus epidermidis* – 33,4%, при субклинической форме доминирующей микрофлорой был стафилококк – на его долю приходилось 90% от всех возбудителей мастита [16].

Для планирования лечебно-профилактических мероприятий в сельскохозяйственных предприятиях необходимо учитывать видовой состав патогенов, выделяемых при указанных выше формах мастита. Так, например, лечение бета-лактамами антибиотиками (пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы) мастита, вызванного *S. aureus*, будет безрезультатным, так как данный возбудитель обладает множественной устойчивостью к этим препаратам и, наоборот, действенным при выявлении *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*. Хорошо известно, что в настоящее время для лечения мастита применяются комплексные препараты для интрацистернального введения, причем действие этих препаратов разделяется по периодам их введения (лактационный и запускной), а не по формам мастита.

Новизна данной работы состоит в изучении видового состава микрофлоры при субклинических и клинических маститах коров.

В связи с актуальностью проблемы маститов коров, разнообразием выделяемой микрофлоры при этом заболевании, а также для планирования лечебно-профилактических мероприятий в хозяйствах целью данной работы было выявить сходства и различия видового состава микроорганизмов при субклинической и клинической форме воспаления молочной железы, их количественное соотношение, установить зависимость выделяемой микрофлоры от формы мастита. Исходя из того, что в научных источниках имеется незначительное количество информации о сравнении факторов патогенности золотистого стафилококка при той и другой форме воспаления молочной железы, также была поставлена цель изучить и сравнить ферментативные свойства этого патогена при клиническом и субклиническом мастите.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Микробиологическим исследованиям подвергнуто молоко от коров, больных маститом в субклинической и клинической формах, из тринадцати животноводческих хозяйств Вологодской, Ярославской и Костромской областей.

Отбор проб молока и исследования проводили в соответствии с «Методическими указаниями по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени коров» [17], идентификацию выделенных микроорганизмов – согласно ГОСТ 30347–2016 «Молоко и молочная продукция. Метод определения *Staphylococcus aureus*» [18].

Каталазную активность золотистого стафилококка определяли с использованием 3%-й перекиси водорода, коагулазную активность *S. aureus* – с применением плазмы кроличьей цитратной сухой (ЗАО «ЭКОлаб», Россия). Исследование по ферментации маннита проводили на маннитол-солевом агаре (среда № 10 ГРМ). Гемолитическую активность изучали путем высева золотистого стафилококка на кровяной агар, ДНКазную активность – с использованием элективной среды и 1 н раствора соляной кислоты. Гиалуронидазную активность определяли с помощью стандартизованного препарата гиалуроновой кислоты и 1%-го раствора риванола.

Стрептококки идентифицировали с использованием набора реагентов для выявления стрептококков групп А, В, С, G, D, F (ООО «НПО «АКВАПАСТ», Россия).

Математическая обработка полученных результатов была выполнена с помощью методического руководства «Биометрическая обработка лабораторных, клинических и эпизоотологических данных» [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По данным, полученным из пяти сельскохозяйственных предприятий, установлено, что субклиническая форма мастита встречается гораздо чаще, чем клиническая (табл. 1).

Так, во всех пяти исследованных хозяйствах количество коров и нетелей, больных субклиническим маститом, превышало число выявленных животных с клиническими формами воспаления молочной железы. Наибольшая разница отмечена в третьем и пятом хозяйствах – в 5,9 и 2,5 раза соответственно.

Терентьева Н. Ю. и Ермолаев В. А. при изучении структуры воспалительных процессов при проведении исследований в хозяйствах Ульяновской области отмечали, что субклиническая форма мастита (70,83–83,75%) преобладала над клинической (16,25–29,17%) [20].

Халипаев М. Г. и Сакидибирова О. П. в своих исследованиях также установили, что коровы болели клиническим маститом реже (26 гол., или 8%), чем субклиническим (66 гол., или 20%) [21].

В результате проведения микробиологических исследований 182 проб секрета вымени коров, больных маститом в субклинической и клинической формах, из

Таблица 1
Сравнение количества заболевших маститом коров в субклинической и клинической форме в разных хозяйствах

Table 1
Comparison of the number of cows with subclinical and clinical mastitis on different farms

Номер хозяйства	Всего коров	Заболевших маститом, гол./%			Соотношение субклинических маститов и клинических
		всего	в субклинической форме	в клинической форме	
1	1232	346/28,1	228/18,5	118/9,6	1:1,9
2	452	134/29,6	75/16,6	59/13,0	1:1,3
3	800	282/35,2	241/30,1	41/5,1	1:5,9
4	1000	319/31,9	205/20,5	114/11,4	1:1,8
5	598	226/37,8	162/27,1	64/10,7	1:2,5

13 сельскохозяйственных предприятий Вологодской, Ярославской и Костромской областей было изолировано 70 культур патогенной и условно-патогенной микрофлоры.

Провели сравнительный анализ видового состава и количественного соотношения выделенной микрофлоры при указанных выше формах воспаления молочной железы (табл. 2, рис.).

Таблица 2
Видовое разнообразие микроорганизмов при субклиническом и клиническом маститах

Table 2
Species diversity of microorganisms in case of subclinical and clinical mastitis

Номер хозяйства	Виды микроорганизмов, %									
	субклинические маститы					клинические маститы				
	всего проб	<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	энтеробактерии	всего проб	<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	энтеробактерии
1	9	1/11,1	1/11,1	0	0	13	1/7,7	0	1*/7,7	0
2	13	3/23,1	1/7,7	0	2/15,4	5	2/40,0	0	0	2/40,0
3	8	0	0	3*/37,5	1/12,5	2	0	0	2*/100,0	0
4	29	9/31,0	2/6,9	0	1/3,4	11	2/18,2	1/9,1	0	0
5	12	1/8,3	0	0	3/25,0	3	1/33,3	0	0	0
6	10	2/20,0	3/30,0	1*/1** 2/20,0	0	6	3/50,0	0	1*/16,7	0
7	11	3/27,3	0	4*/36,4	0	1	0	0	1*/100,0	0
8	6	0	1/16,7	1**/16,7	0	3	0	0	1**/33,3	0
9	8	1/12,5	0	1**/12,5	0	4	0	0	0	0
10	5	0	0	0	0	6	0	0	0	0
11	7	2/28,6	0	0	0	2	1/50,0	0	0	0
12	1	0	0	0	0	2	0	1/50,0	0	0
13	4	0	0	1**/25,0	1/25,0	1	0	0	0	0
Всего	123	22/17,9	8/6,5	12/9,8 8*/6,5 4**/3,3	8/6,5	59	10/16,9	2/3,4	6/10,2 4*/6,8 2**/3,4	2/3,4

* *S. agalactiae*, ** *S. dysgalactiae*.



Рис. Количественное соотношение микрофлоры при субклинических и клинических формах мастита

Fig. Quantitative analysis of udder microflora in cows with subclinical and clinical mastitis

Было установлено, что при субклиническом мастите из секрета вымени наиболее часто выделяются культуры золотистого стафилококка – в 17,9% случаев, патогенные стрептококки – в 9,8% случаев, из них *S. agalactiae* – в 6,5% и *S. dysgalactiae* – в 3,3%. В равных соотношениях выделены культуры условно-патогенных стафилококков (в 6,5% случаев) и энтеробактерий (в 6,5% случаев).

От коров с клиническим маститом были изолированы культуры золотистого стафилококка в 16,9% случаев, патогенных стрептококков – в 10,2% случаев, из них доля *S. agalactiae* составила 6,8%, *S. dysgalactiae* – 3,4%. Условно-патогенные стафилококки и энтеробактерии выделены в равных количествах – по 3,4% случаев соответственно.

Рост микоплазм на специальных питательных средах при указанных формах мастита не отмечен.

Как показали исследования, при субклинических и клинических формах мастита выделяли идентичные патогенные и условно-патогенные микроорганизмы. Основным возбудителем все также остается *S. aureus*, идентификация которого при скрытой форме мастита

незначительно выше – на 1,0%. За ним следуют *S. agalactiae* и *S. dysgalactiae*, обнаружение которых преобладает при клинической форме воспаления молочной железы в среднем на 0,2%. Выделение условно-патогенных стафилококков в 1,9 раза выше при субклиническом мастите. Стоит отметить, что при клиническом воспалении молочной железы энтеробактерии обнаруживали только на одном из тринадцати сельскохозяйственных предприятий.

Аналогичные результаты по идентичности микрофлоры, а также частоте обнаружения золотистого стафилококка при субклиническом и клиническом мастите в своих исследованиях описывает С. С. Бала [22]. Так, при клинической форме мастита исследователь выделял стафилококки (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. auricularis*) в 75,1% случаев, энтеробактерии (*E. coli*) и стрептококки – в 8,2 и 16,7% случаев соответственно. При субклинической форме заболевания существенных изменений частоты выявления бактерий автор не обнаружил – стафилококки (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. warneri*) были зарегистрированы у 76,7%, стрептококки – у 23,3% обследованных животных. С. С. Бала установил, что лидирующим видом являлся *S. aureus*, который наиболее часто выделялся в монокультуре при обеих формах мастита (в 52,8 и 50,0% случаев соответственно).

В связи с тем, что золотистый стафилококк остается главным возбудителем как клинического, так и субклинического мастита коров, были проведены комплексные исследования, направленные на выявление некоторых факторов его патогенности. С этой целью отобраны 10 изолятов *S. aureus*, выделенных в трех хозяйствах от коров, больных маститом, протекающим как с выраженными клиническими признаками, так и в латентной форме.

Представленные в таблице 3 данные показывают, что все исследуемые изоляты *S. aureus* обладали набором факторов патогенности, характерным для представителей своего вида: каталазной, коагулазной активностью, ферментативной активностью в отношении

Таблица 3
Выраженность некоторых факторов патогенности у изолятов *S. aureus*

Table 3
Severity of some pathogenicity factors in *S. aureus* isolates

Номер изолята	Каталаза	Коагулаза	Ферментация маннита	Гемолиз	ДНКаза	Гиалуронидаза
Субклинические маститы						
1	+	+	+	β	+	–
2	+	+	+	α	+	+
3	+	+	+	β	+	–
4	+	+	+	β	+	–
5	+	+	+	α	+	+
Клинические маститы						
6	+	+	+	β	+	–
7	+	+	+	α	+	–
8	+	+	+	β	+	–
9	+	+	+	α	+	–
10	+	+	+	α	+	+

маннита, гемолитической, ДНКазной активностью, что свидетельствует об их вирулентности. Гиалуронидазную активность наблюдали не у всех изолятов, а только у двух культур золотистого стафилококка, выделенных в разных хозяйствах из молока коров с субклинической формой мастита, и у одной культуры, изолированной из секрета вымени животных с клинической формой мастита.

Высокая гемолитическая активность (зона полного лизиса, альфа-гемолиз) отмечена у изолятов № 2 и 5, выделенных при скрыто протекающем мастите коров, и у патогенов № 7, 9, 10, изолированных из проб от коров с явными симптомами мастита. Остальные культуры золотистого стафилококка обладали бета-гемолитической активностью (зоной неполного лизиса), причем в одном и том же хозяйстве обнаруживали как альфа-, так и бета-гемолитические *S. aureus*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в молочных хозяйствах Вологодской, Ярославской, Костромской областей у коров наиболее широко распространена субклиническая форма мастита. Сравнительный анализ видового состава микроорганизмов, выделяемых из секрета вымени коров, больших субклиническими и клиническими формами мастита, показал, что обнаруживаемая микрофлора является идентичной, следовательно, форма заболевания не зависит от видовой принадлежности микроорганизмов.

Количественное соотношение патогенных стафилококков и стрептококков (*S. aureus*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*) изменяется в зависимости от форм мастита, но незначительно – обнаружение *S. aureus* достигало от 17,9% при субклиническом мастите до 16,9% случаев при клиническом мастите, *S. agalactiae* – от 6,5 до 6,8%, *S. dysgalactiae* – от 3,3 до 3,4% случаев соответственно.

Количество выделяемых культур условно-патогенных стафилококков было выше при субклинической форме мастита в 1,9 раза, причем энтеробактерии при клиническом мастите обнаруживались лишь в одном из тринадцати обследованных хозяйств.

Культуры золотистого стафилококка, обладающие набором факторов патогенности, включая высокую гемолитическую активность (альфа-гемолиз), выявляли у коров как со скрытыми, так и с явными признаками воспаления молочной железы. В одном и том же хозяйстве у некоторых культур *S. aureus* отмечали альфа- и бета-гемолиз, что может свидетельствовать о циркуляции в одном хозяйстве разнообразных штаммов возбудителя с различной вирулентностью.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Полянцева Н. И., Подберезный В. В. Ветеринарное акушерство и биотехника репродукции животных: учебное пособие. Ростов н/Д: Феникс; 2001. 480 с.
- Кузьмин Г. Н. Инфекционный мастит коров. Воронеж: Истоки; 2004. 146 с.
- Куделина Н. А., Тузов И. Н. Профилактика инфекционного мастита у дойных коров на промышленной ферме учхоз «Краснодарское». Научное обеспечение агропромышленного комплекса: материалы X Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 120-летию И. С. Косенко. Краснодар: КубГАУ; 2020; 223–224. eLIBRARY ID: 29131073.
- Мутонин В. И. Борьба с маститами коров. М.: Сельхозиздат; 1963. 160 с.
- Терентьева Н. Ю., Ермолаев Б. А. Распространение мастита у коров в хозяйствах Ульяновской области. Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2015; 2 (30): 141–47. DOI: 10.18286/1816-4501-2015-2-141-147.

6. Иванюк В. П., Бобкова Г. Н. Микрофлора молока и комплексная терапия коров, больных маститом. Состояние, проблемы и перспективы развития современной науки: материалы национальной научно-практической конференции. Брянск: Брянский ГАУ; 2021; 61–68.

7. Семина Л. К., Авдеевская Н. Н., Скулябина З. А., Ворошилов Т. Г., Балдичева Г. А. Индикация кокковой микрофлоры в секрете вымени больных маститом коров. Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2018; 3 (27): 56–60. DOI: 10.25725/vet.san.hyg.ecol.201803010.

8. Демидова Л. Д. Обсемененность молока патогенными стрептококками на фермах промышленного типа. В кн.: Гигиена содержания сельскохозяйственных животных, ветеринарная микробиология и получение продуктов животноводства высокого санитарного качества. М.: ВНИИВС; 1980; 98–100.

9. Кузьмин Г. Н. Эпизоотические особенности мастита кокковой этиологии у коров. Научные аспекты профилактики и терапии болезней сельскохозяйственных животных: материалы научной конференции, посвященной 70-летию факультета ветеринарной медицины Воронежского государственного аграрного университета им. К. Д. Глинки. Воронеж: Воронежский ГАУ; 1996; Ч. 1: 185–186. eLIBRARY ID: 30602442.

10. Лаптев Г. Ю., Новикова Н. И., Ильина Л. А., Иылдырым Е. А., Солдатова В. В., Никонов И. Н. Молекулярно-генетическое исследование микроорганизмов, обуславливающих мастит у КРС. Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. 2017; 4 (6): 30–34. eLIBRARY ID: 30779620.

11. Ильина А. И., Поспелов А. И. Болезни вымени. Ленинград; Москва: Сельхозгиз; 1961. 151 с.

12. Исакова М. Н., Ряпосова М. В., Безбородова Н. А., Брицина О. А. Микробиологический фон при воспалении молочной железы у высокопродуктивных коров. Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». 2017; 2 (22): 63–67. eLIBRARY ID: 29716327.

13. Танбаева Г. А. Диагностика субклинических форм мастита у коров. Актуальные проблемы животноводства в условиях импортозамещения: материалы международной научно-практической конференции, посвященной памяти доктора биологических наук, профессора, заслуженного деятеля науки РФ А. П. Булатова. Курган: Курганская ГСХА; 2018; 399–404.

14. Белкин Б. Л., Черепяхина Л. А., Сотникова В. М., Попкова Т. В., Скребнева Е. Н. Мастит коров: этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика. Орел: ОрелГАУ; 2009. 216 с.

15. Roguinsky M. Etiologie et traitement des mammites. Cahiers Méd. Vét. 1977; 46: 8–13.

16. Мурська С. Д. Дослідження секрету молочної залози у корів господарств Івано-Франківської області. Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Жицького. 2014; 16 (2-2): 244–250.

17. Методические указания по бактериологическому исследованию молока и секрета вымени коров: утв. ГУВ МСХ СССР 30 декабря 1983 г. № 115-69. Режим доступа: <https://base.garant.ru/72125912/89300eff-b84a59912210b23abe10a68f>.

18. ГОСТ 30347–2016 Молоко и молочная продукция. Метод определения *Staphylococcus aureus*. М.: Стандартинформ; 2016. 14 с.

19. Маринин Е. А. Биометрическая обработка лабораторных, клинических и эпизоотологических данных: методическое руководство. Новочеркасск: СКЗНИВИ; 1980. 38 с.

20. Терентьева Н. Ю., Ермолаев В. А. Распространение мастита у коров в хозяйствах Ульяновской области. Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2015; 2 (30): 141–147. DOI: 10.18286/1816-4501-2015-2-141-147.

21. Халипаев М. Г., Сакидибиров О. П. Диагностика и лечение субклинического мастита у коров. Проблемы развития АПК региона. 2019; 3 (39): 202–206. eLIBRARY ID: 41223342.

22. Бала С. С. Биологические свойства микрофлоры, выделенной из молока коров с клинической и субклинической формами мастита. Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2010; 4 (28): 287–289. eLIBRARY ID: 15509299.

REFERENCES

- Polyantsev N. I., Podberезnyi V. V. Veterinary obstetrics and biotechnics of animal reproduction: a textbook. Rostov-on-Don: Feniks; 2001. 480 p. (in Russ.)
- Kuz'min G. N. Infectious mastitis of cows. Voronezh: Istoki; 2004. 146 p. (in Russ.)
- Kudelina N. A., Tuzov I. N. Profilaktika infektsionnogo mastita u doinykh korov na promyshlennoi ferme uchkhov "Krasnodarskoye" = Prevention of infectious mastitis in dairy cows on the instructional farm "Krasnodarskoye". Nauchnoe obespechenie agropromyshlennogo kompleksa: materialy X Vserossiiskoi konferentsii molodykh uchennykh, posvyashchennoi 120-letiyu I. S. Kosenko = Scientific support of the farming sector: materials of the X All-Russian Conference of young scientists dedicated to the 120th anniversary

- ofl. S. Kosenko. Krasnodar: KubSAU; 2020; 223–224. eLIBRARY ID: 29131073. (in Russ.)
4. Mutovin V. I. Cow mastitis control. Moscow: Sel'khozizdat; 1963. 160 p. (in Russ.)
5. Terentyeva N. Y., Ermolaev V. A. Spread of mastitis in cows in farms of Ulyanovsk region. *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2015; 2 (30): 141–147. DOI: 10.18286/1816-4501-2015-2-141-147. (in Russ.)
6. Ivanyuk V. P., Bobkova G. N. Milk microflora and complex therapy of cows with mastitis. *Sostoyanie, problemy i perspektivy razvitiya sovremennoi nauki: materialy natsional'noi nauchno-prakticheskoi konferentsii = State, problems and prospects of development of modern science: materials of the national scientific and practical conference*. Bryansk: Bryansky SAU; 2021; 61–68. (in Russ.)
7. Semina L. K., Avduevskaya N. N., Skulyabina Z. A., Voroshilova T. G., Baldycheva G. A. Indication of coccal microflora of the udder secretion of cows with mastitis. *Russian Journal "Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology"*. 2018; 3 (27): 56–60. DOI: 10.25725/vet.san.hyg.ecol.201803010. (in Russ.)
8. Demidova L. D. Obsemenenost' moloka patogennymi streptokokkami na fermakh promyshlennogo tipa = Contamination of milk with pathogenic streptococci on industrial farms. *In: Hygiene on animal farms, veterinary microbiology and production of high sanitary quality animal products*. Moscow: VNIIVS; 1980; 98–100. (in Russ.)
9. Kuzmin G. N. Epizooticheskie osobennosti mastita kokkovoii etiologii u korov = Epidemic features of mastitis of coccal etiology in cows. *Nauchnye aspekty profilaktiki i terapii boleznei sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh: materialy nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 70-letiyu fakul'teta veterinarnoi meditsiny Voronezhskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Scientific aspects of prevention and therapy of diseases of farm animals: materials of a scientific conference dedicated to the 70th anniversary of the Faculty of Veterinary Medicine of the Voronezh State Agrarian University*. Voronezh: Voronezhskii SAU; 1996; Part 1: 185–186. eLIBRARY ID: 30602442. (in Russ.)
10. Laptev G. Yu., Novikova N. I., Ilyina L. A., Yildirim E. A., Soldatova V. V., Nikonov I. N. Molecular-genetic investigation of microorganisms corresponding mastide in cattle. *Actual issues in agricultural biology*. 2017; 4 (6): 30–34. eLIBRARY ID: 30779620. (in Russ.)
11. Ilyina A. I., Pospelov A. I. Udder diseases. Leningrad; Moscow: Sel'khozgiz; 1961. 151 p. (in Russ.)
12. Isakova M. N., Riaposova M. V., Bezborodova N. A., Britsina O. A. Microbiological background with inflammation of breast of high-productive cows. *Russian Journal "Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology"*. 2017; 2 (22): 63–67. eLIBRARY ID: 29716327. (in Russ.)
13. Tanbaeva G. A. Diagnosis of subclinical forms of mastitis in cows. *Aktual'nye problem zhivotnovodstva v usloviyakh importozameshcheniya: materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi pamyati doktora biologicheskikh nauk, professora, Zasluzhennogo deyatelya nauki RF A. P. Bulatova = Actual problems of animal husbandry in the context of import substitution: materials of the international scientific and practical conference dedicated to the memory of Doctor of Biological Sciences, Professor, Honored Scientist of the Russian Federation A. P. Bulatov*. Kurgan: Kurgan SAA; 2018; 399–404. (in Russ.)
14. Belkin B. L., Cherepahina L. A., Sotnikova V. M., Popkova T. V., Skrebneva E. N. Cow mastitis: etiology, pathogenesis, diagnosis, treatment and prevention. Orel: Orel SAU; 2009. 216 p. (in Russ.)
15. Roguinsky M. Etiologie et traitement des mammites. *Cahiers Med. Vet.* 1977; 46: 8–13.
16. Мурська С. Д. Дослідження секрету молочної залози у корів господарств Івано-Франківської області. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С. З. Жицького*. 2014; 16 (2-2): 244–250. (in Ukrainian)
17. Methodological guidelines for the bacteriological study of milk and udder secretion of cows: approved by the Main State Veterinary Department of the Ministry of Agriculture of the USSR on December 30, 1983. No. 115-69. Available at: <https://base.garant.ru/72125912/89300ef-fb84a59912210b23abe10a68f>. (in Russ.)
18. GOST 30347–2016 Milk and milk products. Methods for determination of *Staphylococcus aureus*. Moscow: Standartinform; 2016. 14 p. (in Russ.)
19. Marinin E. A. Biometric processing of laboratory, clinical and epidemic data: a methodological guide. Novocherkassk: NCZSRVI; 1980. 38 p. (in Russ.)
20. Terentyeva N. Y., Ermolayev V. A. Spread of mastitis in cows in farms of Ulyanovsk region. *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2015; 2 (30): 141–147. DOI: 10.18286/1816-4501-2015-2-141-147. (in Russ.)
21. Khalipaev M. G., Sakidibirov O. P. Diagnostics and treatment of subclinical mastitis at cows. *Problems of development of the agro-industrial complex of the region*. 2019; 3 (39): 202–206. eLIBRARY ID: 41223342. (in Russ.)
22. Bala S. S. Biological properties of microflora secreted from milk produced by cows with clinical and subclinical forms of mastitis. *Izvestia Orenburg State Agrarian University*. 2010; 4 (28): 287–289. eLIBRARY ID: 15509299. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 23.05.2022

Поступила после рецензирования / Revised 17.06.2022

Принята к публикации / Accepted 22.07.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Авдеевская Наталья Николаевна, научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Вологда, Россия.

Капустин Андрей Владимирович, доктор биологических наук, доцент, заместитель директора по научной работе ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, Россия.

Горбатов Александр Вениаминович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, Россия.

Иванов Евгений Валерьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, Россия.

Natalia N. Avduevskaya, Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, Vologda, Russia.

Andrey V. Kapustin, Doctor of Science (Biology), Associate Professor, Deputy Director for Scientific Work, FSC VIEV, Moscow, Russia.

Alexander V. Gorbatov, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Head of Laboratory of Microbiology, FSC VIEV, Moscow, Russia.

Evgeny V. Ivanov, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Microbiology, FSC VIEV, Moscow, Russia.

DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-303-308
 УДК 619:616.98:579:636.082.453.52:636.2:615.33



Микробиологические исследования свежеполученной спермы быков-производителей на племпредприятии

М. А. Сушкова¹, И. Я. Строганова², С. А. Счисленко³

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

¹ <https://orcid.org/0000-0003-1271-3510>, e-mail: macha_sychkova@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-4118-3862>, e-mail: i.ya.strog@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-0578-1681>, e-mail: shislenco@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Контаминация бактериями и грибами спермы, полученной в производственных условиях, во многом зависит от санитарных условий при ее получении, а также от бактерионосительства быков-производителей. Так как наличие антибактериальных препаратов, входящих в состав разбавителя при криоконсервации спермопродукции, не позволяет объективно оценить степень ее обсеменения, для установления источника контаминации было проведено микробиологическое исследование свежеполученной неразбавленной спермы быков на племенном предприятии АО «Красноярскагроплем». Для эффективного лечения бактерионосителей определяли чувствительность выделенных культур условно-патогенных микроорганизмов к антибиотикам. Эксперимент выполнен в 2017 и 2018 гг. на базе кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ и ветеринарной лаборатории АО «Красноярскагроплем». Сперму отбирали в соответствии с ГОСТ 32222-2013, ветеринарно-санитарный контроль материала проводили по ГОСТ 32198-2013. Чувствительность к антибиотикам выделенных культур микроорганизмов определяли диско-диффузионным методом согласно методическим указаниям МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» с использованием дисков, содержащих восемь препаратов. Анализ результатов микробиологических исследований показал, что выбраковка спермы по санитарным показателям на племенном предприятии происходила за счет выделения условно-патогенных микроорганизмов: в 2017 г. – синегнойной палочки (6,4% проб) и протей (8,5% проб); в 2018 г. – синегнойной палочки (2,4% образцов). Остальные показатели (общее микробное число и коли-титр) находились в пределах допустимой нормы. Анаэробы и патогенные грибы обнаружены не были. Четыре выделенных в 2017–2018 гг. изолята *Pseudomonas aeruginosa* и три изолята *Proteus vulgaris* проявили чувствительность к ципрофлоксацину, который можно использовать для этиотропной терапии быков в случае установления у них бактерионосительства.

Ключевые слова: быки-производители, свежеполученная сперма, контаминация, бактерионосительство, условно-патогенные микроорганизмы, чувствительность к антибиотикам

Для цитирования: Сушкова М. А., Строганова И. Я., Счисленко С. А. Микробиологические исследования свежеполученной спермы быков-производителей на племпредприятии. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 303–308. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-303-308.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Счисленко Светлана Анатольевна, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ, 660130, Россия, г. Красноярск, ул. Словова, д. 16, кв. 72, e-mail: shislenco@mail.ru.

Microbiological tests of fresh bull semen collected at breeding establishment

М. А. Sushkova¹, I. Ya. Stroganova², S. A. Schislenco³

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

¹ <https://orcid.org/0000-0003-1271-3510>, e-mail: macha_sychkova@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-4118-3862>, e-mail: i.ya.strog@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-0578-1681>, e-mail: shislenco@mail.ru

SUMMARY

Bacterial and fungal contamination of the semen collected in production environment largely depends on the sanitary conditions of its collection as well as on the bacteria carrier state in breeding bulls. Since antimicrobials contained in the diluent used during semen product cryopreservation do not allow an objective assessment of semen contamination, a microbiological testing of fresh undiluted bull semen was carried out at the AO “Krasnoyarskagropem” breeding establishment to identify the contamination source. The isolated opportunistic microorganism cultures were tested for their susceptibility to antibiotics for the purpose of effective treatment of bacteria carriers. The experiment was performed at the Department for Epizootiology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise of the Institute of Applied Biotechnology and Veterinary Medicine of the FSBEI HE “Krasnoyarsk State Agrarian University” and at the Veterinary Laboratory of the AO “Krasnoyarskagropem” in 2017 and 2018. Semen was collected in accordance with GOST 32222-2013 and tested for veterinary and sanitary parameters according to GOST 32198-2013. Isolated microorganism cultures were tested for their susceptibility to antibiotics with disc-diffusion method according

© Сушкова М. А., Строганова И. Я., Счисленко С. А., 2022

to the Methodical Guidelines 4.2.1890-04 "Testing of microorganisms for their susceptibility to antimicrobials" using discs containing eight antimicrobials. Analysis of microbiological test results showed that semen was rejected for sanitary reasons at the breeding establishment due to isolation of the following opportunistic microorganisms: *Pseudomonas aeruginosa* (6.4% samples) and *Proteus vulgaris* (8.5% sample) in 2017 and *Pseudomonas aeruginosa* (2.4% samples) in 2018. Other test parameters (total microbial count, coliform count) were within admissible limits. No anaerobes and pathogenic fungi were detected. Four *Pseudomonas aeruginosa* isolates and three *Proteus vulgaris* isolates recovered during the test have demonstrated susceptibility to ciprofloxacin that can be used for etiotropic treatment of bulls identified as bacteria carriers.

Key words: bulls, fresh semen, contamination, bacteria carrier state, opportunistic microorganisms, susceptibility to antibiotics

For citation: Sushkova M. A., Stroganova I. Ya., Schislenko S. A. Microbiological tests of fresh bull semen collected at breeding establishment. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 303-308. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-303-308.

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

For correspondence: Svetlana A. Schislenko, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor of Department of Epizootology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise, FSBEI HE KrasSAU, 660130, Russia, Krasnoyarsk, ul. Slotsova, d. 16, kv. 72, e-mail: shislenko@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В Красноярском крае молочное скотоводство является приоритетным направлением отрасли животноводства, определяющим успешность его развития. Современный период развития скотоводства в крае характеризуется широким использованием в воспроизводстве лучшего мирового генофонда скота, генотипов выдающихся быков-производителей благодаря развитию технологии получения, криоконсервации продукции и искусственному осеменению [1, 2].

На племпредприятиях вопросу контроля качества спермы быков-производителей уделяется первостепенное значение [3].

При проведении искусственного осеменения опасность представляют этиологические агенты бактериальной и вирусной природы, которые передаются через сперму и могут вызывать инфекционные заболевания маточного поголовья [4–12].

Контаминация бактериями и грибами полученной в производственных условиях спермы во многом зависит от санитарных условий при ее получении, а также от бактерионосительства быков-производителей [3, 13, 14].

Для обеспечения сохранности оплодотворяющей способности спермы на продолжительный срок ее разбавляют специальными средами, включающими антибактериальные средства [15–17]. В результате проведенных ранее исследований было установлено, что противомикробные компоненты, входящие в состав разбавителя при криоконсервации, не всегда губительно действуют на все контаминанты, что приводит к выбраковке уже криоконсервированной спермы [18].

Так как наличие антибактериальных препаратов не позволяет объективно оценить степень обсеменения спермы, для определения источника ее контаминации было проведено микробиологическое исследование свежеполученной неразбавленной спермы быков-производителей АО «Красноярскагроплем».

В задачи исследования входило:

1. Анализ результатов микробиологических исследований спермы для ее ветеринарно-санитарной оценки.
2. Определение чувствительности выделенных культур микроорганизмов к противомикробным препаратам.

В последнее время в Российской Федерации, как и во всем мире, отмечается рост устойчивости инфекционных агентов к антибактериальным препаратам, что приводит к проявлению жизнеспособности микроорганизмов при проведении этиотропного лечения.

На сегодня это одна из серьезных угроз здоровью. Неправильное использование антибиотиков ускоряет этот процесс, и все больше инфекционных заболеваний становится сложнее лечить, что характеризуется длительным течением болезни и увеличением экономических затрат.

Основными причинами, способствующими развитию антибиотикорезистентности микроорганизмов, являются: необоснованное назначение антибиотиков для лечения легких форм заболеваний; применение препаратов широкого спектра действия, когда достаточно препаратов с узким спектром действия; назначение препаратов без учета этиологического спектра возбудителей и их чувствительности.

Надзор за распространением антибиотикорезистентности является стратегической задачей в ветеринарии. Для определения устойчивости микроорганизмов к антибактериальным препаратам применяют фенотипические (традиционные) и молекулярно-генетические методы [19].

В России существует база данных *AMRmap*, в которой отражены результаты мониторинга антибиотикорезистентности микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в 2017 и 2018 гг. на кафедре эпизоотологии, микробиологии, паразитологии и ветеринарно-санитарной экспертизы института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Красноярский ГАУ и в ветеринарной лаборатории АО «Красноярскагроплем». Микробиологические исследования проводили в ветеринарной лаборатории АО «Красноярскагроплем».

Объектом исследования были быки-производители голштинской красно-пестрой и черно-пестрой, симментальской, герефордской и абердин-ангусской пород.

Предметом исследования явилась свежеполученная сперма быков-производителей в количестве 141 пробы. Сперма отбиралась в асептических услови-

ях по одному эякуляту от каждого быка в стерильную пробирку в соответствии с ГОСТ 32222-2013 «Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб» [20].

Проведение ветеринарно-санитарного контроля качества спермы проводили по следующим показателям: определение общего количества микроорганизмов – микробное число в 1 см³ (КОЕ/см³), определение коли-титра в 1 см³; наличие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и анаэробов.

Общее микробное число (ОМЧ) в 1 см³ определяли путем посева спермы на мясо-пептонный агар (МПА) из двух разведений (1:10 и 1:1000) на четыре чашки от каждого разведения с использованием двухслойного агарового метода. Коли-титр определяли посевом на среду Булира для сбраживания бактериями группы кишечной палочки (БГКП) маннита. Оценивали результат визуально по изменению цвета среды и наличию газообразования.

Для выявления условно-патогенных микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa* использовали мясо-пептонный бульон (МПБ) с добавлением 10% глюкозы, для идентификации *Proteus vulgaris* проводили микроскопию препаратов и хлороформалиновую пробу.

Для выделения анаэробов сперму культивировали на среде Китта-Тароцци в соответствии с ГОСТ 32198-2013 «Средства воспроизводства. Сперма. Методы микробиологического анализа» [21] и с учетом методических рекомендаций по профилактике микробной контаминации спермы быков-производителей [3].

Микологическое исследование спермы проводили по методике оценки спермы, применяемой при искусственном осеменении сельскохозяйственных животных [22].

Чувствительность к антибиотикам выделенных культур микроорганизмов проводили диско-диффузионным методом с использованием дисков, содержащих ципрофлоксацин (5 мкг), стрептомицин (30 мг), гентамицин (10 мкг), тетрациклин (30 мкг), ампициллин (10 мкг), цефтазидим (30 мкг), имипенем (10 мкг), полимиксин (300 ЕД), в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные в 2017 г. микробиологические исследования 47 образцов свежеполученной неразбавленной спермы показали, что ни одна из проб не дала роста на среде Китта-Тароцци, следовательно, в испытуемом материале отсутствовали анаэробы. Наибольшее выявленное значение ОМЧ составило 3290 КОЕ/см³ при максимальном по ГОСТ 32198-2013 – 5000 КОЕ/см³. В шести пробах (12,8%) спермы образование колоний на плотных питательных средах не обнаружено. Среднее значение ОМЧ исследуемых образцов составило 275 ± 76 КОЕ/см³. В одной пробе коли-титр был равен 0,1 см³.

В трех образцах свежей спермы выявили наличие синегнойной палочки (изоляты № 3, 37, 42), что составило 6,4% от общего количества исследованных проб. Сперма от таких животных выбраковывается, а быки-спермодоноры ставятся на контроль по бактериосистемности.

Синегнойная палочка относится к виду палочковидных бактерий. Она обладает такими факторами патогенности, как подвижность и токсинообразование,

и легко поражает организм с ослабленным иммунным статусом [24].

Псевдомонады способны длительное время персистировать в организме, поэтому микроорганизм эволюционно выработал механизмы защиты от применяемых лечебных мер и ускользания от иммунных реакций организма хозяина.

Одним из важнейших факторов колонизации микроорганизма является образование биопленки. В данном случае полисахаридный матрикс клетки становится невидимым для иммунной системы, а экзополисахариды затрудняют диффузию антибактериальных препаратов [25].

Клетки организма хозяина используются для накопления псевдомонад. Такая инвазия наблюдается, как правило, в эпителиальных клетках при заражении мочеполовых путей, и обычно у входных ворот инфекции контаминация возбудителем значительно больше [24].

Положительный эффект в борьбе с биопленками *P. aeruginosa* был достигнут М. С. Walters et al. при комбинированном использовании тобрамицина, ципрофлоксацина и тетрациклина, действующих на активные клетки в верхнем слое биопленки, и антибиотика колистина, влияющего на неактивные клетки [26].

Результаты исследований по определению антибиотикорезистентности выделенных изолятов *P. aeruginosa* представлены на рисунке 1 и в таблице 1.

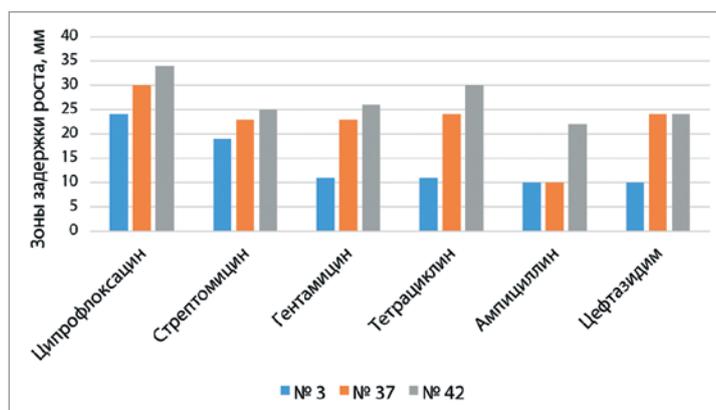


Рис. 1. Определение чувствительности изолятов *P. aeruginosa*, выделенных в 2017 г.

Fig. 1. Tests of *P. aeruginosa* isolates recovered in 2017 for their susceptibility

Таблица 1
Антибиотикорезистентность выделенных в 2017 г. изолятов *P. aeruginosa* к противобактериальным препаратам

Table 1
Antimicrobial resistance of *P. aeruginosa* isolates recovered in 2017

Наименование антибиотика	Чувствительность изолятов		
	№ 3	№ 37	№ 42
Ципрофлоксацин	чувствительный	чувствительный	чувствительный
Стрептомицин	чувствительный	чувствительный	чувствительный
Гентамицин	резистентный	чувствительный	чувствительный
Тетрациклин	резистентный	чувствительный	чувствительный
Ампициллин	резистентный	резистентный	чувствительный
Цефтазидим	резистентный	чувствительный	чувствительный

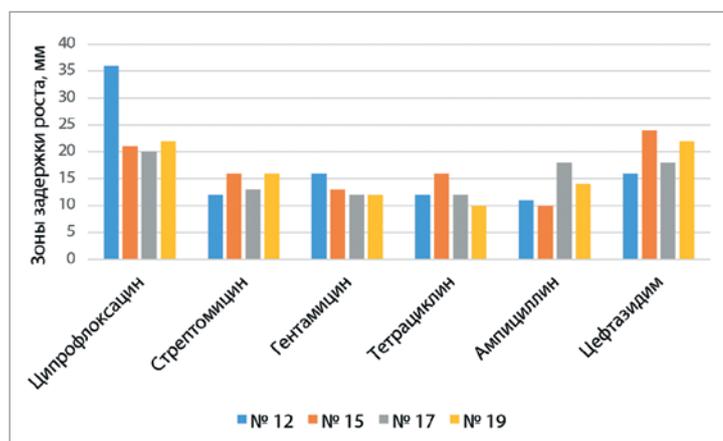


Рис. 2. Определение антибиотикорезистентности изолятов *P. vulgaris*, выделенных в 2017 г.

Fig. 2. Tests of *P. vulgaris* isolates recovered in 2017 for their antimicrobial resistance

Таблица 2
Антибиотикорезистентность выделенных в 2017 г. изолятов *P. vulgaris* к противобактериальным препаратам

Table 2
Antimicrobial resistance of *P. vulgaris* isolates recovered in 2017

Наименование антибиотика	Чувствительность изолятов			
	№ 12	№ 15	№ 17	№ 19
Ципрофлоксацин	чувствительный	чувствительный	промежуточный	чувствительный
Стрептомицин	резистентный	промежуточный	промежуточный	промежуточный
Гентамицин	чувствительный	промежуточный	резистентный	резистентный
Тетрациклин	резистентный	промежуточный	резистентный	резистентный
Ампициллин	резистентный	резистентный	чувствительный	промежуточный
Цефтазидим	промежуточный	чувствительный	чувствительный	чувствительный

Полученные данные свидетельствуют о том, что все три изолята *P. aeruginosa* проявили большую чувствительность к ципрофлоксацину и меньшую – к стрептомицину. Изоляты № 37 и 42 также были чувствительны гентамицину, тетрациклину и цефтазидиму. Изолят № 42 оказался чувствительным еще и к ампициллину.

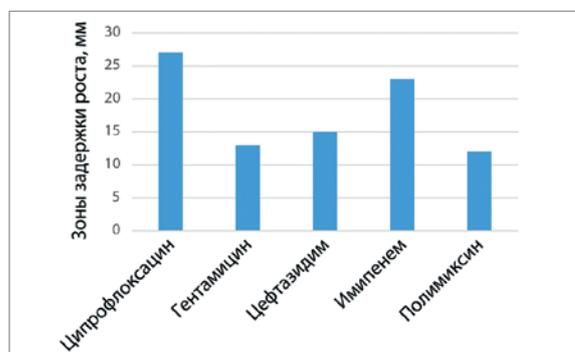


Рис. 3. Определение антибиотикорезистентности изолята *P. aeruginosa*, выделенного в 2018 г.

Fig. 3. Test of *P. aeruginosa* isolate recovered in 2018 for its antimicrobial resistance

В 8,5% от общего количества исследованных проб (изоляты № 12, 15, 17, 19) был выделен патогенный протей (*Proteus vulgaris*), который является грамотрицательной, спорообразующей, факультативно-анаэробной мелкой нитевидной палочкой. Протей – представитель нормальной, условно-патогенной микрофлоры желудочно-кишечного тракта млекопитающих.

Бактерии рода *Proteus* в основном становятся причиной болезни молодняка сельскохозяйственных животных, находящихся в иммунодепрессивном состоянии и подверженных стрессам. Вспышки протейной инфекции регистрируются спорадически, основной путь передачи возбудителя – алиментарный.

Протей относится к типичному виду грамотрицательных бактерий, содержащих бета-лактамазы, которые способствуют развитию резистентности к антимикробным препаратам, таким как пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы [27].

Сперма от таких быков-производителей выбраковывается, а сами они ставятся на контроль по бактерионосительству. В данном случае целесообразно проводить определение чувствительности каждой свежесделанной культуры микроорганизмов к антимикробным препаратам для проведения более эффективного лечения быков в случае установления бактерионосительства.

Результаты исследований по определению антибиотикорезистентности изолятов *P. vulgaris* к антимикробным препаратам представлены на рисунке 2 и в таблице 2.

В результате исследования установили, что три из четырех изолятов *P. vulgaris* (№ 12, 15, 19) проявили высокую чувствительность к ципрофлоксацину, а изолят № 17 – промежуточную. Изоляты № 15, 17, 19 были чувствительны к цефтазидиму, изолят № 12 – к гентамицину, а № 17 – к ампициллину.

Весной 2018 г. было получено и исследовано 42 пробы свежей спермы быков-производителей. В испытуемых образцах среднее значение ОМЧ было равно 142 ± 70 КОЕ/см³, при этом наибольшее значение (2020 КОЕ/см³) установили в одном образце, что составило 2,4% от общего количества исследованных проб. Во всех пробах коли-титр превышал 0,1 см³, при этом стерильными были 14 проб, что составило 33,3%. Анаэробы и патогенные грибы не обнаружены. Из одной пробы, что составило 2,4%, был выделен возбудитель псевдомонозы – синегнойная палочка. Полученную

Таблица 3
Антибиотикорезистентность выделенного в 2018 г. изолята *P. aeruginosa* к противобактериальным препаратам

Table 3
Antimicrobial resistance of *P. aeruginosa* isolate recovered in 2018

Наименование антибиотика	Чувствительность изолята
Ципрофлоксацин	чувствительный
Гентамицин	промежуточный
Цефтазидим	промежуточный
Имипенем	чувствительный
Полимиксин	резистентный

чистую культуру *P. aeruginosa* оценивали на предмет ее антибиотикорезистентности к антимикробным препаратам. Результаты представлены на рисунке 3 и в таблице 3.

Полученные данные показали, что выделенный изолят *P. aeruginosa* наибольшую чувствительность проявил к ципрофлоксацину и имипенему.

Осенью 2018 г. было отобрано и исследовано 52 эякулята от быков-производителей. При исследовании полученных образцов рост на МПА и других используемых питательных средах отсутствовал. По результатам микологического исследования патогенные грибы в сперме быков не обнаружены. Учитывая полученные результаты исследования, установили, что сперма была пригодной для искусственного осеменения.

ВЫВОДЫ

1. Анализ результатов микробиологических исследований свежеполученной на племпредприятии спермы быков-производителей показал, что выбраковка спермопродукции по санитарным показателям происходила за счет выделения условно-патогенных микроорганизмов: в 2017 г. – синегнойной палочки в 6,4% и протее в 8,5% образцов, в 2018 г. – синегнойной палочки в 2,4% проб. Остальные показатели – ОМЧ и коли-титр – оставались в пределах допустимой нормы. Анаэробы и патогенные грибы выделены не были.

2. При определении антибиотикорезистентности изолятов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных в 2017 г. (3 изолята *P. aeruginosa* и 3 изолята *P. vulgaris*) и 2018 г. (1 изолят *P. aeruginosa*), к противомикробным препаратам установили чувствительность культур к ципрофлоксацину, который можно использовать для лечения быков при выявлении у них бактерионосительства. К остальным препаратам чувствительность различалась среди культур одного и того же вида, но полученных от разных животных, поэтому для эффективной этиотропной терапии целесообразно определять чувствительность выделенных культур к антимикробным препаратам.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альбом по искусственному осеменению крупного рогатого скота. Под ред. А. И. Абилова. М.: Росинформагротех; 2011. 172 с.
2. Лефлер Т. Ф., Четвертакова Е. В., Еремина И. Ю., Луценко А. Е., Волков А. Д. Влияние голштинской породы на генофонд молочного скота Красноярского края. *Достижения науки и техники АПК*. 2017; 31 (8): 54–57. eLIBRARY ID: 30053601.
3. Белоножкин В. П., Величко Л. В. Профилактика микробной контаминации спермы быков-производителей: методические рекомендации. п. Быково; 2013. 26 с.
4. Балашов Н. Г. Ветеринарный контроль при искусственном осеменении животных. М.: Колос; 1980. 272 с.
5. Герасимов С. В. Иммунобиологические свойства вакцины против кампилобактериоза крупного рогатого скота в зависимости от компонента состава: автореф. дис. ... канд. вет. наук. СПб.; 2018. 22 с.
6. Глов А. Г., Глотова Т. И., Семенова О. В. Проявление инфекционного ринотрахеита у телят раннего возраста. *Ветеринария*. 2013; 12: 11–14. eLIBRARY ID: 33915850.
7. Глов А. Г., Глотова Т. И., Строганова И. Я. Вирусные болезни крупного рогатого скота при интенсивном ведении молочного животноводства. Красноярск: Красноярский ГАУ; 2010. 187 с.
8. Глов А. Г., Глотова Т. И. Вирусная диарея: значение в патологии воспроизводства крупного рогатого скота. *Ветеринария*. 2015; 4: 3–8. eLIBRARY ID: 23235383.
9. Глов А. Г., Глотова Т. И., Шуляк А. Ф. Особенности проявления вирусной диареи – болезни слизистых оболочек у племенных быков. *Ветеринария*. 2012; 12: 3–6. eLIBRARY ID: 18235850.
10. Строганова И. Я., Хлыстунов А. Г., Трухоненко А. А., Гуменная Е. Ю. Распространение вирусных и микоплазменных инфекций крупного ро-

гатого скота в животноводческих хозяйствах Средней Сибири. *Вестник КрасГАУ*. 2013; 8 (83): 41–43. eLIBRARY ID: 21298303.

11. Шуляк А. Ф., Величко Г. Н. Инфекционный ринотрахеит у племенных быков на племпредприятиях. *Ветеринария*. 2016; 11: 7–11. eLIBRARY ID: 27297113.
12. Morrell E. L., Barbeito C. G., Odeón C. A., Gimeno E. J., Campero C. M. Histopathological, immunohistochemical, lectin histochemical and molecular findings in spontaneous bovine abortions by *Campylobacter fetus*. *Reprod. Domest. Anim.* 2011; 46 (2): 309–315. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2010.01668.x.
13. Сушкова М. А., Строганова И. Я. Влияние санитарной обработки быков-производителей на микробную контаминацию спермы. *Инновационные тенденции развития Российской науки: материалы XI Международной научно-практической конференции молодых ученых (10–11 апреля, 2018 г.)*. Красноярск: Красноярский ГАУ; 2018; 96–98. eLIBRARY ID: 36279040.
14. Meena G. S., Raina V. S., Gupta A. K., Mohanty T. K., Bhakat M., Abdullah M., Bishist R. Effect of preputial washing on bacterial load and preservability of semen in Murrah buffalo bulls. *Vet. World*. 2015; 8 (6): 798–803. DOI: 10.14202/vetworld.2015.798-803.
15. Aires V. A., Hinsch K. D., Mueller-Schloesser F., Bogner K., Mueller-Schloesser S., Hinsch E. *In vitro* and *in vivo* comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*. 2003; 60 (2): 269–279. DOI: 10.1016/S0093-691X(02)01369-9.
16. Herold F. C., Gerber D., Aurich J. E. Influence of homologous seminal plasma on bovine epididymal semen frozen with Trilady® or AndroMed®. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*. 2002; 90: 8–61.
17. Nabiev D., Gilles M., Schneider H., Mahabir E., Koll H., Schellander H. K. AndroMed® versus Trilady® – influence on functional *in vitro* fertility parameters and IVP of frozen thawed bovine semen. *Wien Tierärztl Monat. = Vet. Med. Austria*. 2003; 90 (Suppl. 1).
18. Sushkova M. A., Stroganova I. Y., Schislenko S. A., Lefler T. F., Chetvertakova E. V., Donkova N. V. Veterinary and sanitary control of cryopreserved sperm of stud bulls. *Asia Life Sciences*. 2019; 28 (1): 23–32. eLIBRARY ID: 41645896.
19. Munita J. M., Arias C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4 (2): 4.2.15. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
20. ГОСТ 32222-2013 Средства воспроизводства. Сперма. Методы отбора проб. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200105456>.
21. ГОСТ 32198-2013 Средства воспроизводства. Сперма. Методы микробиологического анализа. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200105526>.
22. Методические указания по лабораторному исследованию спермы производителей, а также препаратов и инструментов, применяемых при искусственном осеменении животных, на бактериальную загрязненность: утв. ГУВ МСХ СССР 17 июля 1969 г. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/456010871>.
23. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (методические указания МУК 4.2.1890-04). *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2004; 6 (4): 306–359.
24. Лазарева А. В., Чеботарь И. В., Крыжановская О. А., Чеботарь В. И., Маянский Н. А. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2015; 17 (3): 170–186. eLIBRARY ID: 24110410.
25. Мележик И. А., Яворская Н. В., Шепелевич В. В., Козкозей В. Н. Роль биопленок *Pseudomonas aeruginosa* в развитии эндогенных инфекций. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. 2013; 3: 8. eLIBRARY ID: 20449698.
26. Walters M. C. 3rd, Roe F., Bugnicourt A., Franklin M. J., Stewart P. S. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47 (1): 317–323. DOI: 10.1128/AAC.47.1.317-323.2003.
27. Васильев Д. А., Феоктистова Н. А., Золотухин С. Н. Выделение и изучение биологических свойств бактерий рода *Proteus*. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017; 2 (38): 70–75. DOI: 10.18286/1816-4501-2017-2-70-75.

REFERENCES

1. Album on artificial insemination of cattle. Ed. by A. I. Abilov. Moscow: Rosinformagrotekh; 2011. 172 p. (in Russ.)
2. Lefler T. F., Chetvertakova E. V., Eremina I. Yu., Luschenko A. E., Volkov A. D. Influence of Holstein breed on the gene pool of dairy cattle in Krasnoyarsk krai. *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2017; 31 (8): 54–57. eLIBRARY ID: 30053601. (in Russ.)
3. Belonozhkin V. P., Velichko L. V. Prevention of microbial contamination of breeding bull semen: methodical guidelines. p. Bykovo; 2013. 26 p. (in Russ.)

4. Balashov N. G. Veterinary control during artificial insemination of animals. Moscow: Kolos; 1980. 272 p. (in Russ.)
5. Gerasimov S. V. Immunological properties of the vaccine against bovine campylobacteriosis depending on the vaccine formula: Candidate of Science Thesis Abstract. Saint Petersburg; 2018. 22 p. (in Russ.)
6. Glotov A. G., Glotova T. I., Semenova O. V. Infectious bovine rhinotracheitis in young calves. *Veterinariya*. 2013; 12: 11–14. eLIBRARY ID: 33915850. (in Russ.)
7. Glotov A. G., Glotova T. I., Stroganova I. Ya. Viral bovine diseases in intensive dairy farming systems. Krasnoyarsk: KrasSAU; 2010. 187 p. (in Russ.)
8. Glotov A. G., Glotova T. I. Impact of bovine viral diarrhoea virus to fertility in cattle. *Veterinariya*. 2015; 4: 3–8. eLIBRARY ID: 23235383. (in Russ.)
9. Glotov A. G., Glotova T. I., Shuliak A. F. Peculiarities of bovine viral diarrhoea – mucosal disease in breeding bulls. *Veterinariya*. 2012; 12: 3–6. eLIBRARY ID: 18235850. (in Russ.)
10. Stroganova I. Ya., Khlystunov A. G., Trukhonenko A. A., Gumennaya E. Yu. The spreading of cattle viral and mycoplasmal infections in the livestock enterprises in the central Siberia. *The Bulletin of KrasSAU*. 2013; 8 (83): 41–43. eLIBRARY ID: 21298303. (in Russ.)
11. Shulyak A. F., Velichko G. N. Infectious bovine rhinotracheitis of the breeding bulls in the artificial insemination centre. *Veterinary*. 2016; 11: 7–11. eLIBRARY ID: 27297113. (in Russ.)
12. Morrell E. L., Barbeito C. G., Odeón C. A., Gimeno E. J., Campero C. M. Histopathological, immunohistochemical, lectin histochemical and molecular findings in spontaneous bovine abortions by *Campylobacter fetus*. *Reprod. Domest. Anim.* 2011; 46 (2): 309–315. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2010.01668.x.
13. Sushkova M. A., Stroganova I. Ya. Influence of sanitary treatment of bulls-producers on microbial contamination of sperm. *Innovatsionnye tendentsii razvitiya Rossiiskoi nauki: materialy XI Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii molodykh uchenykh (10–11 aprelya, 2018 g.) = Innovation trends in Russian science development: Proceedings of the XI International Scientific and Practical Conference of Early-Career Scientists (April 10–11, 2018)*. Krasnoyarsk: KrasSAU; 2018; 96–98. eLIBRARY ID: 36279040. (in Russ.)
14. Meena G. S., Raina V. S., Gupta A. K., Mohanty T. K., Bhakat M., Abdullah M., Bishit R. Effect of preputial washing on bacterial load and preservability of semen in Murrah buffalo bulls. *Vet. World*. 2015; 8 (6): 798–803. DOI: 10.14202/vetworld.2015.798-803.
15. Aires V. A., Hinsch K. D., Mueller-Schloesser F., Bogner K., Mueller-Schloesser S., Hinsch E. *In vitro* and *in vivo* comparison of egg yolk-based and soybean lecithin-based extenders for cryopreservation of bovine semen. *Theriogenology*. 2003; 60 (2): 269–279. DOI: 10.1016/s0093-691x(02)01369-9.
16. Herold F. C., Gerber D., Aurich J. E. Influence of homologous seminal plasma on bovine epididymal semen frozen with Trilady® or AndroMed®. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift*. 2002; 90: 8–61.
17. Nabiev D., Gilles M., Schneider H., Mahabir E., Koll H., Schellander H & K. AndroMed® versus Trilady® – influence on functional *in vitro* fertility parameters and IVP of frozen thawed bovine semen. *Wien Tierärztl Monat. = Vet. Med. Austria*. 2003; 90 (Suppl. 1).
18. Sushkova M. A., Stroganova I. Ya., Schislenko S. A., Lefler T. F., Chetvertakova E. V., Donkova N. V. Veterinary and sanitary control of cryopreserved sperm of stud bulls. *Asia Life Sciences*. 2019; 28 (1): 23–32. eLIBRARY ID: 41645896.
19. Munita J. M., Arias C. A. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol. Spectr.* 2016; 4 (2): 4.2.15. DOI: 10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015.
20. GOST 32222-2013. Product for reproduction. Semen. Methods of select sample. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200105456>. (in Russ.)
21. GOST 32198-2013 Product for reproduction. Semen. Microbiological analysis technique. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200105526>. (in Russ.)
22. Methodical Guidelines for laboratory tests of breeder semen as well as for medicinal products and instruments used for artificial insemination for bacterial contamination: approved by the Main Veterinary Department of the USSR Ministry of Agriculture of 17 July 1969. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456010871>. (in Russ.)
23. Guidelines for Susceptibility Testing of Microorganisms to Antibacterial Agents. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2004; 6 (4): 306–359. (in Russ.)
24. Lazareva A. V., Tchebotar I. V., Kryzhanovskaya O. A., Tchebotar V. I., Mayanskiy N. A. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenicity, pathogenesis and diseases. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2015; 17 (3): 170–186. eLIBRARY ID: 24110410. (in Russ.)
25. Melezhyk I. A., Yavorskaya N. V., Shepelevich V. V., Kokozay V. N. The role of biofilm in *Pseudomonas aeruginosa* endogenous infections. *Bulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN*. 2013; 3: 8. eLIBRARY ID: 20449698. (in Russ.)
26. Walters M. C. 3rd, Roe F., Bugnicourt A., Franklin M. J., Stewart P. S. Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2003; 47 (1): 317–323. DOI: 10.1128/AAC.47.1.317-323.2003.
27. Vasiliev D. A., Feoktistova N. A., Zolotukhin S. N. Isolation and study of biological properties of *Proteus* genus bacteria. *Vestnik of Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2017; 2 (38): 70–75. DOI: 10.18286/1816-4501-2017-2-70-75. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 04.10.2022

Поступила после рецензирования / Revised 20.10.2022

Принята к публикации / Accepted 07.11.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Сушкова Мария Алексеевна, ветеринарный врач ветеринарной лаборатории АО «Красноярскагроплем», Красноярский край, Россия.

Строганова Ирина Яковлевна, доктор биологических наук, доцент, профессор 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.

Mariya A. Sushkova, Veterinarian, Veterinary Laboratory of the AO "Krasnoyarskagroplem" breeding establishment, Krasnoyarsk Krai, Russia.

Irina Ya. Stroganova, Doctor of Science (Biology), Associate Professor, Professor of 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 of Department of Epizootology, Microbiology, Parasitology and Veterinary and Sanitary Expertise, FSBEI HE KrasSAU, Krasnoyarsk, Russia.



Возвращение бешенства после многолетнего межэпизоотического периода (Амурская область, Россия)

А. Д. Ботвинкин¹, И. Д. Зарва², И. В. Мельцов³, С. А. Чупин⁴, Е. М. Полещук⁵, Н. Г. Зиняков⁶, С. В. Самохвалов⁷,
И. В. Соловей⁸, Н. В. Яковлева⁹, Г. Н. Сидоров¹⁰, И. А. Бойко¹¹, В. Г. Юдин¹², Е. И. Андаев¹³, А. Е. Метлин¹⁴

^{1,2} ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России), г. Иркутск, Россия

³ ФГБОУ ВО «Иркутский государственный аграрный университет им. А. А. Ежевского» (ФГБОУ ВО Иркутский ГАУ), г. Иркутск, Россия

^{4,6} ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

^{5,10} ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, г. Омск, Россия

^{7,8} Управление ветеринарии Амурской области, г. Благовещенск, Россия

⁹ ГБУ АО «Амурская областная ветеринарная лаборатория», г. Благовещенск, Россия

¹⁰ ФГБОУ ВО «Омский государственный педагогический университет» (ФГБОУ ВО «ОмГПУ»), г. Омск, Россия

¹¹ Управление Роспотребнадзора по Амурской области, г. Благовещенск, Россия

¹² ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии»

Дальневосточного отделения Российской академии наук (ФНЦ биоразнообразия ДВО РАН), г. Владивосток, Россия

¹³ ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия

¹⁴ Совместный центр ФАО/МАГАТЭ по ядерным методам в продовольственной и сельскохозяйственной областях, Вена, Австрия

¹ <https://orcid.org/0000-0002-1324-7374>, e-mail: botvinkin_ismu@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4225-5998>, e-mail: ivan_zarva@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-8566-7004>, e-mail: ivanmeltsov@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-2114-5589>, e-mail: chupin@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-8217-5159>, e-mail: e-poleschuk@yandex.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-3015-5594>, e-mail: zinyakov@arriah.ru

⁷ e-mail: samohvalov.sv@mail.ru

⁸ e-mail: ira.solovey.64@mail.ru

⁹ e-mail: amurvetlab@yandex.ru

¹⁰ <https://orcid.org/0000-0002-8344-7726>, e-mail: g.n.sidorov@mail.ru

¹¹ e-mail: zoo2@cge-amur.ru

¹² <https://orcid.org/0000-0002-0969-020X>, e-mail: vudin75@yandex.ru

¹³ <https://orcid.org/0000-0002-6612-479X>, e-mail: e.andaev@gmail.com

¹⁴ <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>, e-mail: metlin@iaea.org

РЕЗЮМЕ

Проведено описательное ретроспективное эпизоотологическое исследование в Амурской области (Дальний Восток России), где в 2018 г. выявлена вспышка бешенства, целью которого было проанализировать возможные пути заноса и особенности пространственно-временного распространения бешенства на территорию, которая оставалась свободной от этой инфекции с 1972 до 2018 г. В 2018–2021 гг. на бешенство были исследованы пробы головного мозга, полученные от 1416 животных. Подтверждено 47 случаев бешенства, доля диких животных (*Vulpes vulpes*, *Nyctereutes procyonoides*, *Canis lupus*) составила 66%. Первые случаи выявлены на расстоянии до 30 км от государственной границы с Китаем. Определены нуклеотидные последовательности гена нуклеопротеина 3 изолятов вируса бешенства и установлена их принадлежность к генетической линии Arctic-like-2. Генетически наиболее близкие к ним изоляты вируса бешенства были выявлены в провинции Хэйлунцзян (Китай, 2011 и 2018 гг.) и Еврейской автономной области (Россия, 1980 г.). Для картографирования случаев бешенства использовали геоинформационные системы и открытые данные дистанционного зондирования Земли. После 2018 г. эпизоотия распространялась в пределах лесостепных ландшафтов Зейско-Буреинской равнины, где заболевания людей и животных регистрировалось в прошлом (до 1972 г.). Фронт эпизоотии распространялся на северо-востоке направлении со средней скоростью 59 (16–302) км за один эпизоотический год (цикл). Занос вируса бешенства наиболее вероятен по долине реки Амур из неблагоприятных по бешенству районов России и Китая, расположенных ниже по течению.

Ключевые слова: бешенство, пространственно-временной анализ, возвращающиеся инфекции, трансграничные инфекции, Arctic-like-2

Благодарности: Исследование частично выполнено за счет гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на реализацию отдельных мероприятий Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (соглашение № 075-15-2021-1054).

Для цитирования: Ботвинкин А. Д., Зарва И. Д., Мельцов И. В., Чупин С. А., Полещук Е. М., Зиняков Н. Г., Самохвалов С. В., Соловей И. В., Яковлева Н. В., Сидоров Г. Н., Бойко И. А., Юдин В. Г., Андаев Е. И., Метлин А. Е. Возвращение бешенства после многолетнего межэпизоотического периода (Амурская область, Россия). *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 309–318. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-309-318.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

© Ботвинкин А. Д., Зарва И. Д., Мельцов И. В., Чупин С. А., Полещук Е. М., Зиняков Н. Г., Самохвалов С. В., Соловей И. В., Яковлева Н. В., Сидоров Г. Н., Бойко И. А., Юдин В. Г., Андаев Е. И., Метлин А. Е., 2022

Для корреспонденции: Ботвинкин Александр Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, 664003, Россия, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, e-mail: botvinkin_ismu@mail.ru.

Rabies re-emergence after long-term disease freedom (Amur Oblast, Russia)

A. D. Botvinkin¹, I. D. Zarva², I. V. Meltsov³, S. A. Chupin⁴, E. M. Poleshchuk⁵, N. G. Zinyakov⁶, S. V. Samokhvalov⁷, I. V. Solovey⁸, N. V. Yakovleva⁹, G. N. Sidorov¹⁰, I. A. Boyko¹¹, V. G. Yudin¹², E. I. Andaev¹³, A. Ye. Metlin¹⁴

^{1,2} FSBEI HE "Irkutsk State Medical University" of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (FSBEI HE ISMU MOH Russia), Irkutsk, Russia

³ FSBEI HE "Irkutsk State Agricultural University named after A. A. Ezhevsky" (FSBEI HE Irkutsk SAU), Irkutsk, Russia

^{4,6} FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

^{5,10} Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Omsk, Russia

^{7,8} Department of Veterinary of the Amur Oblast, Blagoveshchensk, Russia

⁹ Amur Oblast Veterinary Laboratory, Blagoveshchensk, Russia

¹⁰ Omsk State Pedagogical University, Omsk, Russia

¹¹ Rosпотребнадзор Territorial Administration for the Amur Oblast, Blagoveshchensk, Russia

¹² Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (FSCEATB FEB RAS), Vladivostok, Russia

¹³ Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia

¹⁴ Joint FAO/IAEA Centre of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, Vienna, Austria

¹ <https://orcid.org/0000-0002-1324-7374>, e-mail: botvinkin_ismu@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4225-5998>, e-mail: ivan_zarva@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-8566-7004>, e-mail: ivanmeltsov@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-2114-5589>, e-mail: chupin@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-8217-5159>, e-mail: e-poleschuk@yandex.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-3015-5594>, e-mail: zinyakov@arriah.ru

⁷ e-mail: samokhvalov.sv@mail.ru

⁸ e-mail: ira.solovey.64@mail.ru

⁹ e-mail: amurvetlab@yandex.ru

¹⁰ <https://orcid.org/0000-0002-8344-7726>, e-mail: g.n.sidorov@mail.ru

¹¹ e-mail: zoo2@cge-amur.ru

¹² <https://orcid.org/0000-0002-0969-020X>, e-mail: vudin75@yandex.ru

¹³ <https://orcid.org/0000-0002-6612-479X>, e-mail: e.andaev@gmail.com

¹⁴ <https://orcid.org/0000-0002-4283-0171>, e-mail: metlin@iaea.org

SUMMARY

Retrospective descriptive epizootological study was conducted in the Amur Oblast (Russian Far East), where a rabies outbreak was reported in 2018. The aim of the study was to analyze probable routes of rabies introduction and features of its spatial and temporal spread in the territory that remained free from this infection from 1972 to 2018. In 2018–2021, altogether 1,416 animals were examined for the infection with the rabies virus. Forty-seven animal rabies cases were confirmed; the proportion of wild animals (*Vulpes vulpes*, *Nyctereutes procyonoides*, *Canis lupus*) amounted to 66%. The first cases were detected within 30 km from the state border with China. Nucleotide sequences of the nucleoprotein gene of three rabies virus isolates were determined and their belonging to the Arctic-like-2 genetic lineage was established. Genetically closest rabies virus isolates have been found in Heilongjiang Province (China, 2011, 2018) and Jewish Autonomous Oblast (Russia, 1980). GIS and open Earth remote sensing data were used to map the rabies cases. After 2018, the epizootic spread within the forest-steppe landscapes of the Zeya-Bureya Plain, where human and animal rabies cases had been earlier reported (until 1972). The front of the epizootic spread in a north-eastern direction at an average speed of 59 (16–302) km during one epizootic cycle. The introduction of the rabies virus was most likely along the Amur River valley from downstream regions of Russia and China that are rabies infected.

Keywords: rabies, spatiotemporal analysis, re-emerging infections, cross-border infections, Arctic-like-2

Acknowledgements: The study was partially financed by funds of the grant from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for the implementation of certain activities under the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies for 2019–2027 (Agreement No. 075-15-2021-1054).

For citation: Botvinkin A. D., Zarva I. D., Meltsov I. V., Chupin S. A., Poleshchuk E. M., Zinyakov N. G., Samokhvalov S. V., Solovey I. V., Yakovleva N. V., Sidorov G. N., Boyko I. A., Yudin V. G., Andaev E. I., Metlin A. Ye. Rabies re-emergence after long-term disease freedom (Amur Oblast, Russia). *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 309–318. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-309-318.

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

For correspondence: Aleksandr D. Botvinkin, Doctor of Science (Medicine), Professor, Head of Department of Epidemiology, FSBEI HE ISMU MOH Russia, 664003, Russia, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstaniya, 1, e-mail: botvinkin_ismu@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на низкие показатели заболеваемости людей бешенством в Российской Федерации, борьба с этой зоонозной инфекцией остается актуальной государственной задачей. После 2010 г. в стране регистрировалось ежегодно в среднем около 3300 случаев бешенства диких и домашних животных [1, 2]. Природные очаги бешенства занимают огромную территорию, и в последние десятилетия наблюдается проникновение инфекции в районы, ранее свободные от данного зооноза. В некоторых районах России, в том числе на Дальнем Востоке, сохраняется и даже относительно возрастает значение собак как источника инфекции для человека [1, 3–5]. Собаки остаются основными резервуаром бешенства в Китае, где распространены варианты вируса, активно циркулирующие в антропогенных очагах. Заболеваемость людей в этой стране в последние годы снижается, но ежегодно регистрируются сотни случаев после укусов собак [6,7]. В свете этих данных на востоке Азии требуются дополнительные усилия для реализации проекта Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), направленного на глобальную ликвидацию заболеваний людей бешенством в результате заражения от собак [8].

В прошлом бешенство было широко распространено в Амурской области. В 1912 г. в Благовещенске открылась одна из первых на Дальнем Востоке пастеровских станций, и с этого времени началось документирование случаев заболевания бешенством и ведение учета людей, пострадавших от укусов животных. До 1957 г. было зарегистрировано 34 случая смерти людей от бешенства на фоне эпизоотий, преимущественно среди собак. В 1972 г. отмечена последняя вспышка среди крупного рогатого скота, предположительно, связанная с нападением на стадо бешеного волка [9]. С тех пор Амурская область считалась благополучной по бешенству. В 2018 г. после многолетнего периода эпизоотического благополучия на территории региона были вновь зарегистрированы случаи заболевания бешенством диких и сельскохозяйственных животных [2, 3].

Цель исследования – проанализировать возможные пути проникновения и особенности пространственно-временного распространения бешенства на территорию, которая оставалась свободной от этой инфекции более 45 лет.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективный анализ заболеваемости бешенством проведен по двум временным периодам: 2018–2021 и 1946–1972 гг. После 2018 г. обобщены официальные данные о животных с лабораторно подтвержденным диагнозом ($n = 47$) и сведения, собранные при обследовании эпизоотических очагов. Для выявления циркуляции вируса бешенства на территории области в 2018–2021 гг. исследованы пробы от 1094 диких и 322 домашних и сельскохозяйственных животных. Головной мозг животных с подозрением на бешенство, а также животных, добытых охотниками в связи с проведением активного вирусологического мониторинга, исследовали в соответствии с ГОСТ 26075–2013 «Животные. Методы лабораторной диагностики бешенства». Картографический анализ заболеваемости людей бешенством за 1949–1972 гг. проведен по ранее опубликованным данным [9].

Картографирование выполнено с помощью программы QGIS 3.2.1 на основе электронной ландшафтно-географической карты Natural Earth и открытых данных аэрокосмической съемки Google Earth. Точки на карту наносили по географическим координатам места выявления случая бешенства у животного. Случаи заболевания людей нанесены на карту по месту заражения. Картографический анализ текущей эпизоотии выполнен по эпизоотическим годам (в дальнейшем – циклам): с июля текущего года до июня следующего календарного года [10]. Скорость распространения эпизоотии оценивали по среднему расстоянию от точки регистрации первого случая до всех случаев, выявленных в текущем и последующих эпизоотических циклах (в скобках указаны минимальные и максимальные значения).

Выполнено молекулярно-биологическое исследование 3 изолятов вируса бешенства из района, где в 2018 г. зарегистрированы первые случаи заболевания. Выделение РНК из 10%-й суспензии головного мозга животных, обратную транскрипцию, амплификацию фрагментов кДНК и их нуклеотидное секвенирование проводили, как описано ранее [11]. Филогенетический анализ изолятов вируса бешенства выполнен в программе MEGA X [12] с использованием алгоритма *maximum likelihood*. Для этого проанализированы последовательности гена N, депонированные в электронной базе данных GenBank: все имеющиеся в базе представители генетической группы Arctic-like-2, некоторые представители генетических групп Arctic-like-1 и Arctic, а также представители группы «степных» изолятов (Steppe) из регионов, географически близких к Амурской области. Поиски и определение степени сходства последовательностей проводили с помощью компьютерной поисковой системы BLAST¹.

Данные по численности лисицы, волка и енотовидной собаки заимствованы с сайта управления по охране, контролю и регулированию использования объектов животного мира и среды их обитания Амурской области [13] с уточнениями [12, 14, 15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первый случай бешенства на территории Амурской области лабораторно подтвержден у крупного рогатого скота 10 ноября 2018 г. в 30 км от государственной границы (с. Шурино Михайловского района). Заражение произошло, предположительно, после забега лисицы в населенный пункт. Почти одновременно, 15 ноября, в административном центре этого района (с. Поярково), расположенном на берегу р. Амур, видеосъемкой зафиксированы явные клинические признаки бешенства у лисицы, бросавшейся на собаку и автомобиль². Лисица убежала, но диагноз не оставляет сомнений. На территории района оперативно был организован отстрел диких животных, в результате выявлено 9 случаев бешенства у лисиц (*Vulpes vulpes*) и енотовидных собак (*Nyctereutes procyonoides*). До конца ноября бешенство лабораторно подтверждено в этом же районе у лошади и крупного рогатого скота. В декабре 2018 г. в ходе активного вирусологического мониторинга выявлены

¹ BLAST. Режим доступа: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (дата обращения: 20.03.2022).

² В амурском селе заметили лисицу с признаками бешенства (видео). Режим доступа: <https://www.amur.info/news/2018/11/15/146089> (дата обращения: 14.02.2022).

Таблица
Распределение лабораторно подтвержденных случаев бешенства в Амурской области по годам и видам животных (2018–2021 гг.)

Table
Yearly and species distribution of the laboratory confirmed animal rabies cases in the Amur Oblast (2018–2021)

Виды животных	Количество случаев бешенства по годам					Доля в общей сумме случаев, % (в скобках 95%-й доверительный интервал)
	2018	2019	2020	2021	Всего	
Лисица	10	5	2	2	19	40,4 (26,3–54,5)
Волк	0	3	2	2	7	14,9 (4,7–25,1)
Енотовидная собака	3	1	0	1	5	10,7 (1,9–19,5)
Домашняя собака	0	1	1	6	8	17,0 (6,2–27,8)
Крупный рогатый скот	2	1	0	4	7	14,9 (4,7–25,1)
Лошадь	1	0	0	0	1	2,1 (0–6,2)
Всего	16	11	5	15	47	100

случаи заболевания бешенством у лисиц и енотовидной собаки в 3 соседних районах – Октябрьском, Константиновском, Завитинском.

В марте 2019 г. особое внимание привлекли 3 случая бешенства волков (*Canis lupus*), зарегистрированные в Михайловском районе в связи с забегами этих животных в населенные пункты и нападением на людей. Одного из этих волков пограничники видели в охраняемой приграничной полосе. Активный мониторинг позволил выявить бешенство у диких животных еще в 3 районах – Белогорском, Бурейском и Октябрьском. В нескольких населенных пунктах местные жители обнаруживали собак и лисиц с клиническими признаками бешенства, но животные убежали или были убиты и сожжены на месте. В конце 2019 г. заболевания лисиц и крупного рогатого скота подтверждены в Ромненском районе. В этом районе, а также в Тамбовском и Белогорском эпизоотия среди диких животных продолжалась до июня 2020 г. В 2021 г. основная часть случаев выявлена в районах,

значительно удаленных от первичного очага, – Серышевском, Свободненском и Мазановском. В то же время в районах, которые были поражены в 2018 г., заболеваний бешенством в 2020–2021 гг. не зарегистрировано. Последний случай за анализируемый период датирован 22 октября 2021 г. В итоге в 2018–2021 гг. бешенство выявлено в 13 административных районах Амурской области.

Основным источником вируса бешенства были дикие животные, доля которых в структуре заболевших животных составила 66%. Чаще всего, особенно в начале эпизоотии, бешенство выявлялось у лисиц (табл.). Заболевания собак регистрировались редко, преимущественно в конце анализируемого периода в поселениях городского типа, при этом в 5 случаях из 8 бешенство подтверждено у собак, не имевших владельца. Частота получения положительных на бешенство результатов при исследовании проб биоматериала от диких животных, добытых в ходе активного мониторинга или найденных больными (мертвыми) в природе и населенных пунктах, в 2018 г. составила 4,0% ($n = 326$), в 2019 г. – 1,6% ($n = 576$), в 2020 г. – 3,4% ($n = 117$), в 2021 г. – 6,7% ($n = 75$). Сбор проб проводился как в южных лесостепных, так и в северных таежных районах от животных различных систематических групп, включая куньих (*Mustelidae*), медвежьих (*Ursidae*), оленевых (*Cervidae*), грызунов (*Rodentia*), но положительные на бешенство результаты получены только у животных семейства псовых (*Canidae*).

Резервуарная роль диких хищных млекопитающих подтверждается при анализе сезонного распределения зарегистрированных случаев бешенства. В начале осеннего подъема заболеваемости регистрировалось бешенство диких и сельскохозяйственных животных, во второй половине годового эпизоотического цикла (в марте – июне) выявлялись заболевания собак (рис. 1). Основная часть зарегистрированных случаев приходится на холодный период года.

Определены нуклеотидные последовательности гена N изолята вируса бешенства 2981/2018/Amur, выделенного от крупного рогатого скота из первого зарегистрированного эпизоотического очага в ноябре 2018 г. (полноразмерный ген, 1353 н. о.), а также изолятов Rus(Amur)8853rd и Rus(Amur)8855f (фрагмент гена, 1110 н. о.) от енотовидной собаки и лисицы соответственно, бешенство у которых выявлено в соседних населенных пунктах в 2018 г. Полученные нуклеотидные последовательности депонированы в базу данных GenBank под номерами MN384722, ON246188 и ON246189. Их анализ показывает, что сравниваемые участки генома изолятов 2981/2018/Amur и Rus(Amur)8855f идентичны, а последовательность изолята Rus(Amur)8853rd отличается от них одним нуклеотидом.

Филогенетические взаимоотношения изучаемых изолятов с другими вирусами бешенства представлены на рисунке 2. Установлено, что изоляты из Амурской области имеют наибольшую степень родства (95,0–99,4%) с вирусами, относящимися к генетической группе Arctic-like-2. Максимальное сходство они проявляют с изолятом TJ11-RD от козы (г. Тунцзян, провинция Хэйлуцзян, Китай, 2011 г.) – 99,4%, изолятом HLJ01 от енотовидной собаки из той же провинции (точное место неизвестно, 2018 г.) – 98,6%, а также с российским изолятом 857г от енотовидной собаки

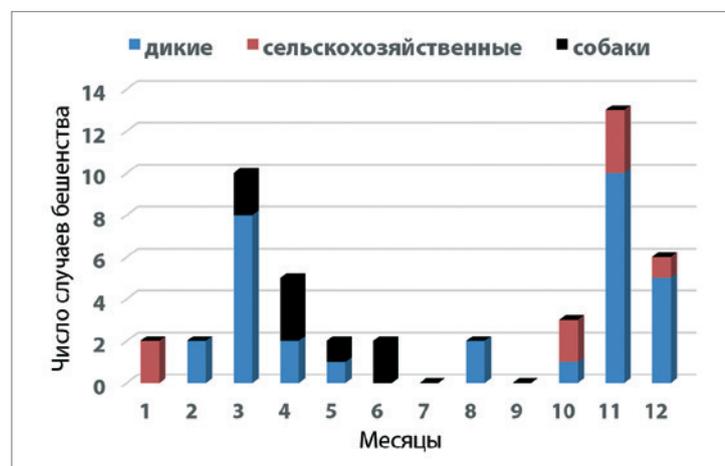


Рис. 1. Сезонное распределение подтвержденных случаев бешенства животных в Амурской области в 2018–2021 гг.

Fig. 1. Seasonal distribution of the confirmed animal rabies cases in the Amur Oblast, 2018–2021

(п. Ленинское, Еврейская автономная область, Россия, 1980 г.) – 98,9%. Следует подчеркнуть, что п. Ленинское и г. Тунцзян расположены примерно в 30 км друг от друга в долине р. Амур, что свидетельствует о многолетней циркуляции близкородственных вариантов вируса бешенства на равнинных территориях России и Китая в среднем течении Амура. Чуть меньшее сходство (98,3%) амурские изоляты проявляют с изолятами из Забайкальского и Приморского краев (1979–1980 гг.), еще меньшее (97,6–97,8%) – с изолятами, выявленными в китайских провинциях Хэбэй, Джилин, Ляонин, Внутренняя Монголия с 2007 по 2020 г. Родство с другими представителями группы Arctic-like-2 из Китая, Монголии, Южной Кореи и Японии составляет 95,0–97,5%. Еще меньшее генетическое сходство изолятов из Амурской области наблюдается с вирусами бешенства генетических групп Arctic-like-1, Arctic и Steppe, распространенными на сопредельных территориях, – менее 92 и 90% соответственно. К настоящему времени вирусы группы Arctic-like-2 в Сибири западнее оз. Байкал и в европейской части России не выявлены [3, 4, 16, 17].

При картографическом анализе прослеживается последовательное распространение бешенства преимущественно в северном и северо-восточном направлении от места выявления первого случая (рис. 3). В течение первого эпизоотического цикла (2018–2019 гг.) среднее расстояние от первичного очага до других очагов составило 49 (16–168) км; в 2019–2020 гг. – 174 (119–201) км; в 2020–2021 гг. – 229 (168–302) км; в первой половине цикла 2021–2022 гг. – 237 (190–300) км. Таким образом, скорость распространения эпизоотии постепенно замедлялась и за один эпизоотический цикл в среднем составила 59 (16–302) км. По мере продвижения эпизоотии регистрация заболеваний в первоначально пораженных районах прекратилась.

Численность лисицы с начала текущего столетия увеличивалась и достигла максимума в 2011 г. (рис. 4). За последние 10–15 лет промысел лисицы практически прекратился, и изменилось ее поведение [14]. Стали регистрироваться забеги внешне здоровых лисиц в населенные пункты и их неагрессивные контакты с людьми. После начала эпизоотии в 2018 г. поголовье лисицы к 2021 г. сократилось в 1,8 раза, численность енотовидной собаки – в 2,7 раза.

По данным многолетних наблюдений, численность енотовидной собаки снижается на многих территориях Дальнего Востока, включая Амурскую область, при одновременном увеличении численности лисицы. Соотношение численности этих двух видов в современный период изменилось в связи с сокращением площади местообитаний, благоприятных для енотовидной собаки, из-за осушения земель и расширения сельскохозяйственных угодий. Эти же процессы способствовали росту численности лисицы. Судя по ранее выполненным исследованиям, наиболее высокая плотность популяции енотовидной собаки и лисицы характерна для открытых лесостепных и пойменно-луговых участков на юге области: в оптимальных местообитаниях в конце прошлого века она достигала 7,3–10,4 и более 5,0 особей на 10 км² соответственно [14, 18, 19]. Эпизоотия выявлена в год наиболее высоких показателей численности волка на фоне ее постепенного увеличения (рис. 4).

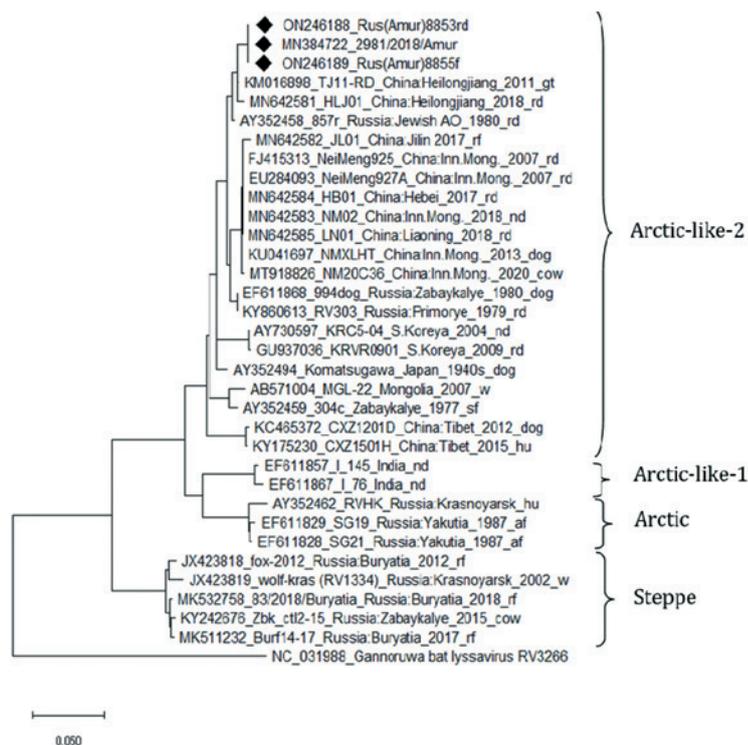


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное на основании анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена N размером 1110 н. (позиция в гене N: 100–1209) изолятов вируса бешенства. В качестве внешней группы использована последовательность лиссавируса летучих мышей Ганнорува. Фигурными скобками выделены генетические группы вируса бешенства. Ромбами маркированы изоляты из Амурской области. В подписях к остальным изолятам указаны: номер доступа в GenBank, название изолята, страна, регион (если известен) и год выявления, вид животного, от которого получен изолят: rd – енотовидная собака; rf – обыкновенная лисица; sf – корсак; af – песец; dog – собака; cow – крупный рогатый скот; w – волк; gt – коза; hu – человек; nd – нет данных

Fig. 2. Phylogenetic tree constructed according to the results of the phylogenetic analysis of nucleotide sequences of 1,110 bp fragment of N gene of the rabies virus isolates (location in N gene: 100–1209). Gannoruwa bat lyssavirus sequence was used as an outgroup. Rabies virus genetic groups are in curly brackets. Amur Oblast isolates are marked with rhombuses. Designations of the rest of the isolates include: GenBank accession number, name of the isolate, country, region (if known) and year of detection, animal species the isolate was recovered from; rd – raccoon dog; rf – red fox; sf – corsac fox; af – Arctic fox; dog – bovine; w – wolf; gt – goat; hu – human; nd – no data

В 2018–2021 гг. бешенство распространялось в пределах Зейско-Буреинской равнины, преимущественно безлесной и распаханной. Прослеживается связь зарегистрированных очагов с долинами Амура, Зеи и других крупных рек (рис. 5). В середине прошлого века эпизоотии, сопровождавшиеся заболеваниями людей, имели сходное, но более широкое распространение, включая северные горно-таежные районы: Тындинский, Сквородинский, Мазановский (рис. 6). Эпизоотии регистрировались с 1948 по 1954 г. ежегодно, затем – в виде вспышек в 1957–1958, 1960, 1967–1969 и 1972 гг. В структуре заболевших животных преобладали собаки (48,6%) и сельскохозяйственные животные (46,5%), на долю кошек и диких животных приходилось 2,8 и 2,1% соответственно. Но среди источников

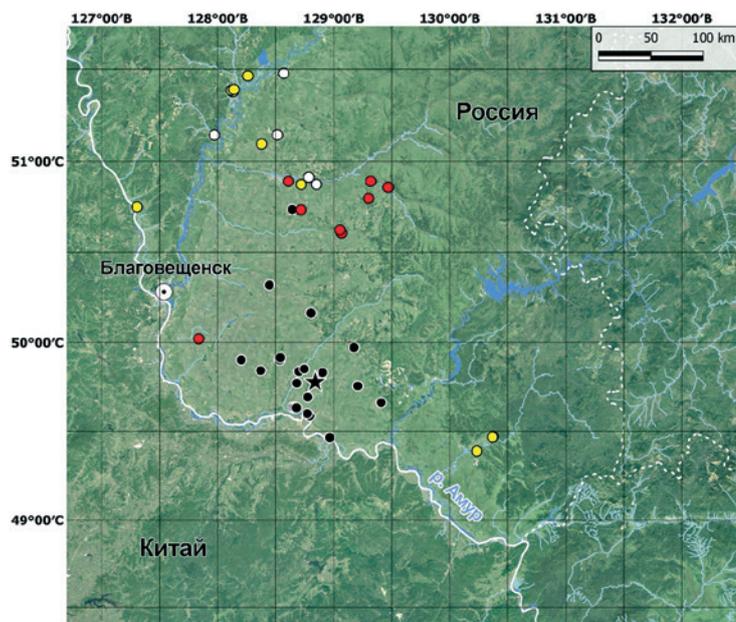


Рис. 3. Пространственное распространение бешенства животных в Амурской области в динамике по эпизоотическим циклам

Fig. 3. Dynamics of rabies spatial spread in the Amur Oblast according to the epizootic cycles

- – эпизоотические очаги до июля 2019 г. (epizootic outbreaks before July, 2019);
- – с июля 2019 по июнь 2020 г. (from July, 2019 to June, 2020);
- – с июля 2020 по июнь 2021 г. (from July, 2020 to June, 2021);
- – с июля по декабрь 2021 г. (from July to December, 2021);
- ★ – первый зарегистрированный эпизоотический очаг (first reported epizootic outbreak)

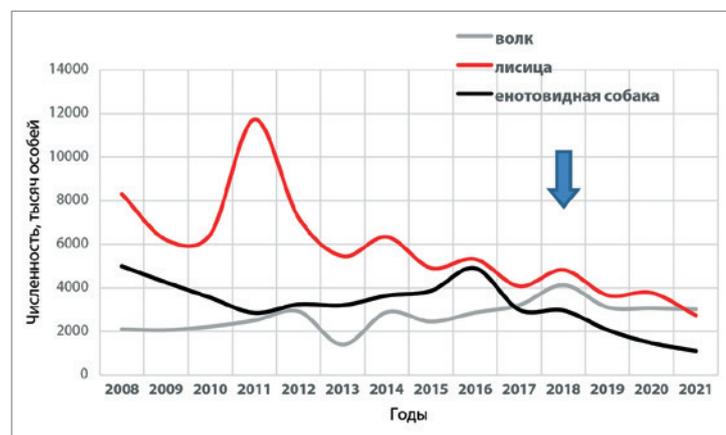


Рис. 4. Динамика численности волка, лисицы и енотовидной собаки в Амурской области в 2008–2021 гг. (стрелкой указано начало эпизоотии)

Fig. 4. Dynamics of wolf, fox and raccoon dog population in the Amur Oblast, 2008–2021 (arrow – start of epizootic)

инфекции для человека доля диких животных (волк, енотовидная собака) составляла 14,3%. Бешенство среди лисиц в этот период не зарегистрировано [9].

Отсутствие на протяжении 45 лет сообщений о заболевании людей и животных указывает на прекращение эпизоотии на территории Амурской области после 1972 г. В 1976–1977 гг. обследовано 647 диких животных из данного региона, в том числе 209 диких

хищных млекопитающих, но вирус бешенства не обнаружен [20]. Прекращению циркуляции вируса бешенства способствовала относительная географическая изоляция Зейско-Буреинской равнины, для которой характерны своеобразные влажные лесостепи маньчжурского типа. От аналогичных ландшафтов России и Китая в среднем течении Амура и его притоков она отделена Буреинским хребтом и Малым Хинганом, а от степей Забайкалья и Внутренней Монголии – Большим Хинганом и отрогами Яблонового хребта. Горы покрыты таежными и хвойно-широколиственными лесами (обозначены на картах темно-зеленой заливкой; рис. 3, 5, 6).

Выявление первых заболеваний бешенством после продолжительного межэпизоотического периода в населенных пунктах в юго-восточной части области вблизи государственной границы указывает на заносное происхождение эпизоотии. Протяженность границы с Китаем, которая проходит по р. Амур, составляет более 1200 км. Наиболее вероятным путем проникновения вируса бешенства в Амурскую область может быть долина Амура. На участке протяженностью около 150 км между Зейско-Буреинской и Среднеамурской равнинами она прорезает горный участок и сравнительно узкая. Другой вероятный путь – с Маньчжурской равнины (Китай) по долинам правобережных притоков Амура, которые впадают в него недалеко от с. Поярково. Северо-восточные склоны Малого Хингана на сопредельных территориях Китая, судя по данным аэрокосмической съемки, лишь частично покрыты лесами, и имеются значительные участки, занятые землями сельскохозяйственного назначения (рис. 5). В пойме Амура на территории обеих стран распространены островные и прибрежные биотопы, которые мало используются для хозяйственных нужд из-за пограничного режима (рис. 7). Это создает дополнительные возможности для миграций хищных млекопитающих после замерзания рек и может способствовать трансграничным заносам вируса бешенства в период ледостава с ноября по март. В Сибири и на Дальнем Востоке дальние заносы вируса бешенства, как правило, связаны с волками [9, 21], и, по-видимому, совпадение начала вспышки бешенства в 2018 г. с высокой численностью волка неслучайно (рис. 4).

Результаты филогенетического анализа подтверждают версию о распространении вируса бешенства по пойме Амура из расположенных ниже по течению территорий Китая и России (рис. 4). В прошлом подобные заносы, по-видимому, происходили и на более дальние расстояния, так как до 1983 г. варианты вируса бешенства Arctic-like-2 циркулировали в Забайкалье (рис. 2). Известно, что представители маньчжурской фауны, в том числе енотовидная собака, могут проникать в Забайкальский край по долинам Амура, Аргуни и Шилки [19]. С 1983 до 2014 г. этот регион России оставался благополучным по бешенству, как и Амурская область. С 2014 г. эпизоотии на юго-востоке Забайкалья возобновились в результате заноса вируса бешенства «степной» (Steppe) генетической линии с запада [2, 21] и, следовательно, в настоящее время непосредственно не связаны с эпизоотией в Амурской области. Но продолжалась циркуляция вируса бешенства на территории, расположенной в 200–300 км ниже Амурской области по течению Амура (Еврейская автономная область, провинция Хэйлуцзян) [2, 16, 22, 23]. Ареалы

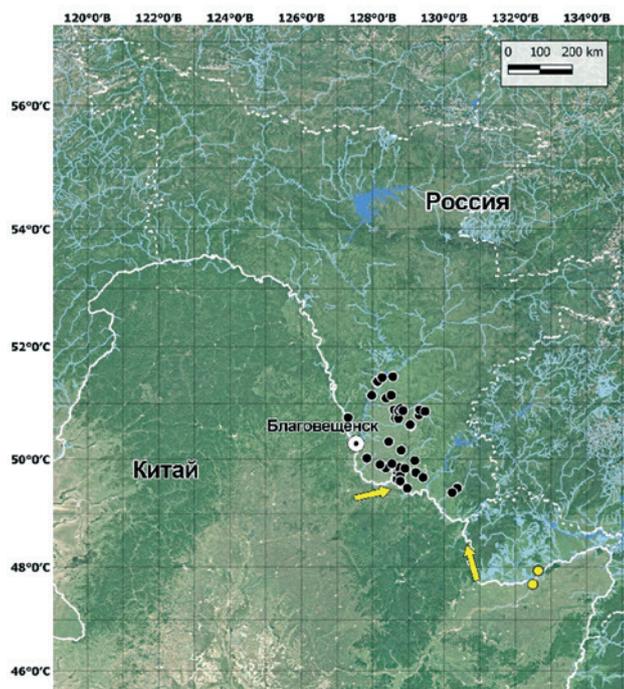


Рис. 5. Возможные направления заноса вируса бешенства в Амурскую область

Fig. 5. Possible routes of rabies virus introduction into the Amur Oblast

● – точки регистрации эпизоотических очагов в Амурской области в 2018–2020 гг. (sites of outbreaks reported in the Amur Oblast in 2018–2020);

● – точки выделения генетически наиболее близких изолятов вируса бешенства на территории России, 1980, и Китая, 2011, 2018 (sites of the recovery of the most genetically related rabies virus isolates in Russia, 1980, and China, 2011, 2018);

стрелками указаны вероятные направления заноса бешенства (arrows – most probable routes of rabies introduction)

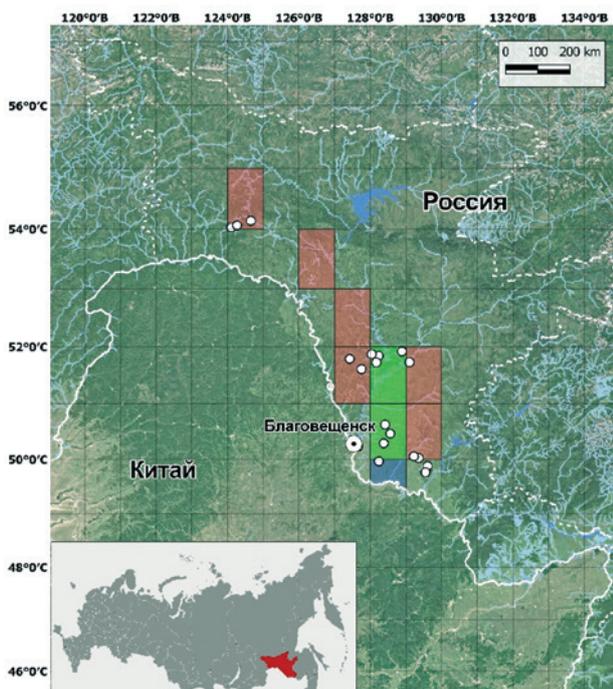


Рис. 6. Распространение бешенства в Амурской области в 1948–1954 гг., по [8]

Fig. 6. Rabies spread in the Amur Oblast in 1945–1954 according to [8]

○ – заболевания людей бешенством – по месту заражения (human rabies cases – according to the site of infection);

■ – бешенство животных регистрировалось 1–2 года за весь период (animal rabies was reported for 1–2 years during the whole period);

■ – бешенство животных регистрировалось 3–4 года (animal rabies was reported for 3–4 years);

■ – бешенство животных регистрировалось 5 и более лет (animal rabies was reported for 5 years and more);

на врезке – Амурская область на карте Российской Федерации (sidebar – Amur Oblast in the map of the Russian Federation)

двух вышеназванных генетических линий вируса бешенства соприкасаются значительно южнее – в степях Внутренней Монголии (Китай) [22, 23–25].

Важно подчеркнуть, что текущая эпизоотия обусловлена вариантом вируса бешенства, с которым в прошлом связаны интенсивные эпизоотии среди собак в Забайкалье, Приморье и Приамурье, сопровождавшиеся гибелью людей [5, 21]. Известно, что в Дальневосточном федеральном округе основным источником заражения человека были и остаются собаки [2, 4, 22]. Экспериментально доказано, что штамм вируса, выделенный на Дальнем Востоке в 1980 г., адаптирован к организму енотовидной собаки и в значительно меньшей степени – к лисице. В этот период енотовидная собака играла более важную роль как источник заражения людей и домашних животных [26]. Единичные заболевания людей после укусов лисиц стали регистрироваться на Дальнем Востоке России только после 2002 г. [22]. С учетом возросшей роли лисицы в циркуляции генетической линии Arctic-like-2 в Приамурье возможны изменения биологических характеристик вирусов этой группы.

Как прогнозировалось ранее, после заноса бешенство получило распространение в тех же районах, что и в прошлом веке [22, 27]. К числу факторов, способствовавших возвращению бешенства на длительно

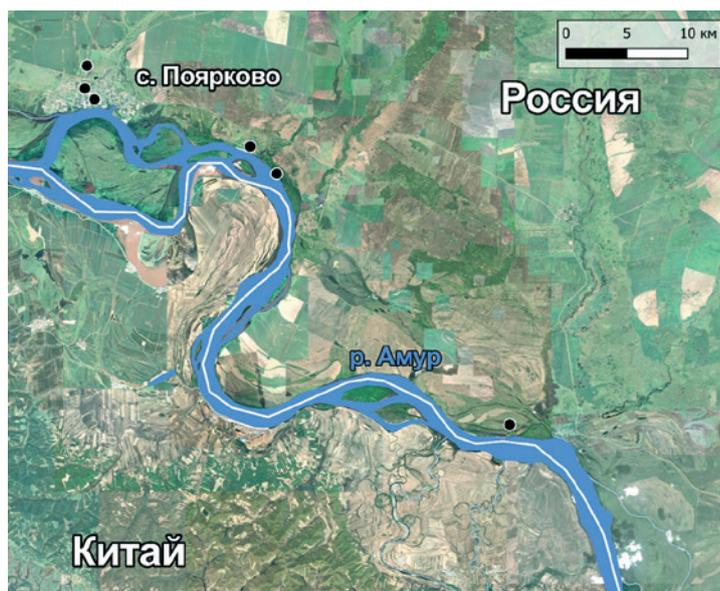


Рис. 7. Аэрокосмический снимок сопредельных территорий России и Китая с точками регистрации первых случаев бешенства в Амурской области в 2018 г.

Fig. 7. Airspace image of Russia and China border areas with the sites, where the first rabies cases were reported in the Amur Oblast in 2018

благополучную территорию, относятся изменения численности и миграционной активности лисицы, волка и енотовидной собаки на юге Дальнего Востока. Известно, что в ретроспективе необычно высокие подъемы численности лисицы и енотовидной собаки в Амурской области наблюдались неоднократно, сопровождалась массовой гибелью этих животных от неустановленных причин [19, 20], а по времени совпадали с интенсивными эпизоотиями бешенства среди собак [9].

После начала эпизоотии в Амурской области резко возросли объемы вакцинации собак, кошек и сельскохозяйственных животных: с 30 тыс. голов в 2018 г. до 155 тыс. в 2019–2020 гг. С 2019 г. проводится оральная вакцинация диких плотоядных вакциной «Раби-став» (120–240 тыс. доз в год). Материалы, представленные в данной статье, могут быть использованы при планировании тактики и объемов вакцинации, а также других мероприятий по борьбе с бешенством. С научной точки зрения ситуация, сложившаяся в регионе, перспективна для изучения периодичности эпизоотий бешенства в бассейне р. Амур и эволюции вируса бешенства при смене основного хозяина (енотовидная собака → лисица).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эпизоотия бешенства в Амурской области в 2018 г. началась после заноса варианта вируса бешенства Arctic-like-2, распространенного на востоке Азии. Наиболее вероятно, что бешенство занесено дикими животными с сопредельных территорий России и Китая, расположенных в пределах Среднеамурской равнины ниже по течению реки Амур. Пойма Амура в период ледостава может служить в качестве экологического русла для распространения вируса бешенства. Как и в прошлом веке, эпизоотия распространялась преимущественно в пределах открытых ландшафтов Зейско-Бурейской равнины. Важной особенностью современной эпизоотии является резко возросшее значение лисицы в циркуляции вируса бешенства генетической линии Arctic-like-2. Природные очаги бешенства в Приамурье, связанные с этим вариантом вируса бешенства, имеют трансграничное распространение.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Shulpin M. I., Nazarov N. A., Chupin S. A., Korennoy F. I., Metlin A. Ye., Mischenko A. V. Rabies surveillance in the Russian Federation. *Rev. Sci. Tech.* 2018; 37 (2): 483–495. DOI: 10.20506/rst.37.2.2817.
- Полещук Е. М., Сидоров Г. Н. Анализ особенностей эпизоотолого-эпидемиологической ситуации и риск заражения бешенством в Российской Федерации в начале XXI века. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; (4): 16–25. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-16-25.
- Полещук Е. М., Сидоров Г. Н., Нашатырева Д. Н., Градобоева Е. А., Пакскина Н. Д., Попова И. В. Бешенство в Российской Федерации: информационно-аналитический бюллетень. Омск: Издательский центр КАН; 2019. 110 с. eLIBRARY ID: 41024936.
- Полещук Е. М., Сидоров Г. Н., Березина Е. С. Бешенство в Российской Федерации: информационно-аналитический бюллетень. Омск: Полиграфический центр КАН; 2013. 65 с. eLIBRARY ID: 25563479.
- Ботвинкин А. Д., Сидоров Г. Н., Полещук Е. М., Зарва И. Д., Нашатырева Д. Н., Якович Н. В. и др. Ретроспективная оценка реализации долгосрочного прогноза пространственного распространения бешенства в азиатской части России. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2020; (2): 13–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-2-13-21.
- Miao F., Li N., Yang J., Chen T., Liu Y., Zhang S., Hu R. Neglected challenges in the control of animal rabies in China. *One Health.* 2021; 12:100212. DOI: 10.1016/j.onehlt.2021.100212.
- Yao H.-W., Yang Y., Liu K., Li X.-L., Zuo S.-Q., Sun R.-X., Fang L. Q., Cao W. C. The spatiotemporal expansion of human rabies and its probable

- explanation in Mainland China, 2004–2013. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9 (2):e0003502. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003502.
- Minghui R., Stone M., Semedo M. H., Nel L. New global strategic plan to eliminate dog-mediated rabies by 2030. *Lancet Glob. Health.* 2018; 6 (8): e828–e829. DOI: 10.1016/S2214-109X(18)30302-4.
 - Савицкий В. П., Ботвинкин А. Д., Белко В. И., Майоров С. П., Сидельникова Н. Ф., Горковенко Л. Е. Эпидемиологические особенности бешенства на Дальнем Востоке. *Современные методы изучения природно-очаговых болезней: материалы конференции (18–20 сентября 1979 г.)*. Омск; 1980; 31–41.
 - Ведерников В. А., Землянова В. Е., Махашов Е., Андерсон С. Э., Жуков И. В., Жанузаков Н. Ж. Разработка краткосрочных прогнозов эпизоотической обстановки. *Труды Всероссийского института экспериментальной ветеринарии.* 1982; 55: 21–26.
 - Adelshin R. V., Melnikova O. V., Trushina Y. N., Botvinkin A. D., Borisova T. I., Andaev E. I., et al. A new outbreak of fox rabies at the Russian-Mongolian border. *Viol. Sin.* 2015; 30 (4): 313–315. DOI: 10.1007/s12250-015-3609-0.
 - Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35 (6): 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096.
 - Управление по охране, контролю и регулированию использования объектов животного мира и среды их обитания Амурской области. Режим доступа: <https://amurohota.amurobl.ru> (дата обращения: 28.03.2022).
 - Сенчик А. В., Тоушкин А. А. Состояние и хозяйственное использование популяций диких животных в Приамурье. *Дальневосточный аграрный вестник.* 2019; 4 (52): 86–93. DOI: 10.24411/1999-6837-2019-14058.
 - Ломанова Н. В., Борисов Б. П., Володина О. А., Губарь Ю. П., Ляпина М. Г., Комиссаров М. А. и др. Состояние охотничьих ресурсов в Российской Федерации в 2008–2010 гг.: информационно-аналитические материалы. *Охотничьи животные России (биология, охрана, ресурсо-ведение, рациональное использование)*. М.: Физическая культура; 2011; Вып. 9. 219 с.
 - Deviatkin A. A., Lukashev A. N., Poleshchuk E. M., Dedkov V. G., Tkachev S. E., Sidorov G. N., et al. The phylogenetics of the rabies virus in the Russian Federation. *PLoS One.* 2017; 12 (2):e0171855. DOI: 10.1371/journal.pone.0171855.
 - Чупин С. А., Чернышова Е. В., Метлин А. Е. Генетическая характеристика полевых изолятов вируса бешенства, выявленных на территории Российской Федерации в период 2008–2011 гг. *Вопросы вирусологии.* 2013; 4: 44–49. eLIBRARY ID: 20502319.
 - Юдин В. Г. Лисица Дальнего Востока СССР. Владивосток: ДВНЦ АН СССР; 1986. 284 с.
 - Юдин В. Г. Енотовидная собака Приморья и Приамурья. М.: Наука; 1977. 162 с.
 - Грибанова Л. Я., Мальков Г. Б., Савицкий В. П., Сидоров Г. Н., Ботвинкин А. Д., Почечукин Д. И. и др. Результаты комплексного изучения природных очагов бешенства и оценка риска заболевания гидрофобией в районах новостроек Восточной Сибири и Дальнего Востока. *Журнал микробиологии, эпидемиологии, иммунологии.* 1980; 57 (7): 86–90. eLIBRARY ID: 22399217.
 - Ботвинкин А. Д., Зарва И. Д., Якович Н. В., Адельшин Р. В., Мельникова О. В., Андаев Е. И. и др. Эпидемиологический анализ вспышек бешенства в Забайкалье после трансграничного заноса инфекции. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы.* 2019; 9 (3): 15–24. DOI: 10.18565/epidem.2019.9.3.15-24.
 - Янович В. А. Эпидемиология, эпизоотология и профилактика бешенства в Еврейской автономной области: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Владивосток; 2004. 28 с. eLIBRARY ID: 15791073.
 - Liu Y., Zhang S., Zhao J., Zhang F., Li N., Lian H., Wurengege, Guo S., Hu R. Fox- and raccoon-dog-associated rabies outbreaks in northern China. *Viol. Sin.* 2014; 29 (5): 308–310. DOI: 10.1007/s12250-014-3484-0.
 - Tao X. Y., Guo Z. Y., Li H., Jiao W. T., Shen X. X., Zhu W. Y., Rayner S., Tang Q. Rabies cases in the West of China have two distinct origins. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9 (10):e0004140. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004140.
 - Shao X. Q., Yan X. J., Luo G. L., Zhang H. L., Chai X. L., Wang F. X., Yang F. H. Genetic evidence for domestic raccoon dog rabies caused by Arctic-like rabies virus in Inner Mongolia, China. *Epidemiol. Infect.* 2011; 139 (4): 629–635. DOI: 10.1017/S0950268810001263.
 - Ботвинкин А. Д., Грибанова Л. Я., Никифорова Т. А. Бешенство у енотовидной собаки в эксперименте. *Журнал микробиология, эпидемиология, иммунология.* 1983; 60 (12): 37–40. eLIBRARY ID: 23191761.
 - Сидоров Г. Н., Савицкий В. П., Ботвинкин А. Д. Ландшафтное распределение хищных млекопитающих семейства собачьих (*Canidae*) как фактор формирования ареала вируса бешенства на юго-востоке СССР. *Зоологический журнал.* 1983; 62 (5): 761–770. eLIBRARY ID: 28786114.

REFERENCES

- Shulpin M. I., Nazarov N. A., Chupin S. A., Korennoy F. I., Metlin A. Ye., Mischenko A. V. Rabies surveillance in the Russian Federation. *Rev. Sci. Tech.* 2018; 37 (2): 483–495. DOI: 10.20506/rst.37.2.2817.
- Poleshchuk E. M., Sidorov G. N. Comparative analysis of features of epizootiological and epidemic situation and risk of rabies infection in the Russian Federation in early XXI century. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2020; (4): 16–25. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-16-25. (in Russ.)
- Poleshchuk E. M., Sidorov G. N., Nashatyreva D. N., Gradoboyeva Ye. A., Pakschina N. D., Popova I. V. Rabies in the Russian Federation: research and information newsletter. Omsk: Izdatel'skii tsentr KAN; 2019. 110 p. eLIBRARY ID: 41024936. (in Russ.)
- Poleshchuk E. M., Sidorov G. N., Berezina E. S. Rabies in the Russian Federation: research and information newsletter. Omsk: Poligraficheskii tsentr KAN; 2018: 65 p. eLIBRARY ID: 25563479. (in Russ.)
- Botvinkin A. D., Sidorov G. N., Poleshchuk E. M., Zarva I. D., Nashatyreva D. N., Yakovchits N. V., et al. Retrospective evaluation of implementation of long-term forecast on spatial spread of rabies in the Asian part of Russia. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2020; (2): 13–21. DOI: 10.21055/0370-1069-2-13-21. (in Russ.)
- Miao F., Li N., Yang J., Chen T., Liu Y., Zhang S., Hu R. Neglected challenges in the control of animal rabies in China. *One Health.* 2021; 12:100212. DOI: 10.1016/j.onehlt.2021.100212.
- Yao H.-W., Yang Y., Liu K., Li X.-L., Zuo S.-Q., Sun R.-X., Fang L. Q., Cao W. C. The spatiotemporal expansion of human rabies and its probable explanation in Mainland China, 2004–2013. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9 (2): e0003502. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003502.
- Minghui R., Stone M., Semedo M. H., Nel L. New global strategic plan to eliminate dog-mediated rabies by 2030. *Lancet Glob. Health.* 2018; 6 (8): e828–e829. DOI: 10.1016/S2214-109X(18)30302-4.
- Savitskiy V. P., Botvinkin A. D., Belko V. I., Mayorov S. P., Sidel'nikova N. F., Gorkovenko L. Ye. Epidemiologicheskie osobennosti beshenstva na Dal'nem Vostoke = Rabies epidemiological features in Far East. *Modern methods of studying natural focal diseases: conference proceedings (September 18–20, 1979).* Omsk; 1980; 31–41. (in Russ.)
- Vedernikov V. A., Zemlyanova V. E., Makhshov E., Anderson Z. E., Zhukov I. V., Zhanuzakov N. Zh. Razrabotka kratkosrochnykh prognozov epizooticheskoi obstanovki = Development of epizootic short-term forecasts. *Proceedings of the All-Russian Institute of Experimental Veterinary Medicine.* Moscow: 1982; 21–26. (in Russ.)
- Adelshin R. V., Melnikova O. V., Trushina Y. N., Botvinkin A. D., Borisova T. I., Andae E. I., et al. A new outbreak of fox rabies at the Russian-Mongolian border. *Virol. Sin.* 2015; 30 (4): 313–315. DOI: 10.1007/s12250-015-3609-0.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35 (6): 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096.
- Department of Regulation, Protection, and Use Control of Fauna Objects and Their Habitat in the Amur Region. Available at: <https://amurohota.amurobl.ru> (date of access: 28.03.2022). (in Russ.)
- Senchik A. V., Tushkin A. A. State and economic use of wild animal population in the Amur Region. *Far East Agrarian Herald.* 2019; 4 (52): 86–93. DOI: 10.24411/1999-6837-2019-14058. (in Russ.)
- Lomanova N. V., Borisov B. P., Volodina O. A., Gubar Yu. P., Lyapina M. G., Komissarov M. A., et al. Sostoyanie okhotnich'ikh resursov v Rossiiskoi Federatsii v 2008–2010 gg. = Condition hunting resources in the Russian Federation in 2008–2010: information and analytical materials. *Hunting animals of Russia (biology, protection, resource studies, rational use).* Moscow: Fizicheskaya kultura; 2011, Issue 9. 219 p. (in Russ.)
- Deviatkin A. A., Lukashev A. N., Poleshchuk E. M., Dedkov V. G., Tkachev S. E., Sidorov G. N., et al. The phylogenetics of the rabies virus in the Russian Federation. *PLoS One.* 2017; 12 (2): e0171855. DOI: 10.1371/journal.pone.0171855.
- Chupin S. A., Chernyshova E. V., Metlin A. E. Genetic characterization of the rabies virus field isolates detected in Russian Federation within the period 2008–2011. *Problems of Virology.* 2013. 4: 44–49. eLIBRARY ID: 20502319. (in Russ.)
- Yudin V. G. Fox of USSR Far East. Vladivostok: Far East Research of USSR AoS; 1986. 284 p. (in Russ.)
- Yudin V. G. Primorye and Amur raccoon dog. Moscow: Nauka; 1977. 162 p. (in Russ.)
- Gribanova L. Ya., Malkov G. B., Savitskiy V. P., Sidorov G. N., Botvinkin A. D., Pochevkin D. I., et al. Results of a study of natural foci of rabies and evaluation of the risk of hydrophobia in new construction areas of Eastern Siberia and the Far East. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, immunobiologii.* 1980; 57 (7): 86–90. PMID: 7435025. (in Russ.)
- Botvinkin A. D., Zarva I. D., Yakovchits N. V., Adelshin R. V., Melnikova O. V., Andae E. I., et al. Epidemiological analysis of rabies outbreaks in the Trans-Baikal region after transboundary drift of infection. *Epidemiologiya i infeksionnyye bolezni. Aktual'nyye voprosy.* 2019; 9 (3): 15–24. DOI: 10.18656/epidem.2019.9.3.15-24. (in Russ.)
- Yanovich V. A. Rabies epidemiology, epizootology and prevention in Jewish Autonomous Oblast: author's thesis of Candidate of Science (Medicine). Vladivostok; 2004: 28 p. eLIBRARY ID: 15791073. (in Russ.)
- Liu Y., Zhang S., Zhao J., Zhang F., Li N., Lian H., Wurengege, Guo S., Hu R. Fox- and raccoon-dog-associated rabies outbreaks in northern China. *Virol. Sin.* 2014; 29 (5): 308–310. DOI: 10.1007/s12250-014-3484-0.
- Tao X. Y., Guo Z. Y., Li H., Jiao W. T., Shen X. X., Zhu W. Y., Rayner S., Tang Q. Rabies cases in the West of China have two distinct origins. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9 (10): e0004140. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004140.
- Shao X. Q., Yan X. J., Luo G. L., Zhang H. L., Chai X. L., Wang F. X., Yang F. H. Genetic evidence for domestic raccoon dog rabies caused by Arctic-like rabies virus in Inner Mongolia, China. *Epidemiol. Infect.* 2011; 139 (4): 629–635. DOI: 10.1017/S0950268810001263.
- Botvinkin A. D., Gribanova L. Ya., Nikiforova T. A. Experimental rabies in the raccoon dog. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, immunobiologii.* 1983; 60 (12): 37–40. PMID: 6666446. (in Russ.)
- Sidorov G. N., Savitskiy V. P., Botvinkin A. D. Landshaftnoe raspredelenie khishchnykh mlekopitayushchikh semeistva sobach'ikh (*Canidae*) kak faktor formirovaniya areala virusa beshenstva na yugo-vostoke SSSR = Landscape distribution of carnivorous mammals of *Canidae* family as a factor for rabies virus range in the south-east USSR. *Zoologicheskii Zhurnal.* 1983; 62 (5): 761–770. eLIBRARY ID: 28786114. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 05.05.2022

Поступила после рецензирования / Revised 03.06.2022

Принята к публикации / Accepted 10.07.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ботвинкин Александр Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, г. Иркутск, Россия.

Зарва Иван Дмитриевич, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России, г. Иркутск, Россия.

Мельцов Иван Владимирович, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры специальных ветеринарных дисциплин, ФГБОУ ВО Иркутский ГАУ, г. Иркутск, Россия.

Чупин Сергей Александрович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории по бешенству и BSE, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Полещук Елена Михайловна, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии и эпидемиологии бешенства ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, г. Омск, Россия.

Aleksandr D. Botvinkin, Doctor of Science (Medicine), Professor, Head of Department of Epidemiology, FSBEI HE ISMU MON Russia, Irkutsk, Russia.

Ivan D. Zarva, Candidate of Science (Medicine), Assistant of the Department of Epidemiology, FSBEI HE ISMU MON Russia, Irkutsk, Russia.

Ivan V. Meltsov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Chair of Special Veterinary Disciplines, FSBEI HE Irkutsk SAU, Irkutsk, Russia.

Sergei A. Chupin, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Rabies and BSE, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Elena M. Poleshchuk, Candidate of Science (Biology), Head of the Laboratory, Leading Researcher of the Laboratory of Ecology and Epidemiology of Rabies, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Omsk, Russia.

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

Самохвалов Сергей Владимирович, начальник управления ветеринарии Амурской области, г. Благовещенск, Россия.

Соловей Ирина Васильевна, заместитель начальника управления – начальник отдела по организации противоэпизоотических мероприятий управления ветеринарии Амурской области, г. Благовещенск, Россия.

Яковлева Наталья Владимировна, директор ГБУ АО «Амурская областная ветеринарная лаборатория», г. Благовещенск, Россия.

Сидоров Геннадий Николаевич, доктор биологических наук, профессор кафедры биологии и биологического образования ФГБОУ ВО «ОмГПУ»; главный научный сотрудник лаборатории экологии и эпидемиологии бешенства ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, г. Омск, Россия.

Бойко Ирина Александровна, зоолог управления Роспотребнадзора по Амурской области, г. Благовещенск, Россия.

Юдин Виктор Георгиевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории териологии ФНЦ биоразнообразия ДВО РАН, г. Владивосток, Россия.

Андаев Евгений Иванович, доктор медицинских наук, заместитель директора, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, г. Иркутск, Россия.

Метлин Артем Евгеньевич, доктор ветеринарных наук, секция животноводства и ветеринарии, Совместный центр ФАО/МАГАТЭ по ядерным методам в продовольственной и сельскохозяйственной областях, Вена, Австрия.

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

Sergey V. Samokhvalov, Head of Department of Veterinary of the Amur Oblast, Blagoveshchensk, Russia.

Irina V. Solovey, Deputy Head of the Unit for Anti-Epizootic Measures of Department of Veterinary of the Amur Oblast, Blagoveshchensk, Russia.

Natalya V. Yakovleva, Director of Amur Oblast Veterinary Laboratory, Blagoveshchensk, Russia.

Gennady N. Sidorov, Doctor of Science (Biology), Professor of the Department of Biology and Biological Education, Omsk State Pedagogical University; Chief Researcher, Laboratory of Ecology and Epidemiology of Rabies, Omsk Research Institute of Natural Focal Infections, Omsk, Russia.

Irina A. Boyko, Zoologist, Department of Rosпотребнадзор Territorial Administration for the Amur Oblast, Russia.

Viktor G. Yudin, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Theriology, FSCEATB FEB RAS, Vladivostok, Russia.

Evgeny I. Andaev, Doctor of Science (Medicine), Deputy Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russia.

Artem Ye. Metlin, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Animal Production and Health Section, Joint FAO/IAEA Centre of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, Vienna, Austria.



Эпизоотологические особенности эхинококкоза собак, овец и коз и меры борьбы с ним в условиях Прикаспийского региона России

С. Ш. Кабардиев¹, А. М. Биттиров², Г. М. Магомедшапиев³, З. Г. Мусаев⁴, С. А. Айгубова⁵, Н. Х. Гюльяхмедова⁶

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

¹ <https://orcid.org/0000-0001-6129-8371>, e-mail: pznivi05@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-2131-5020>, e-mail: bam_58a@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-1742-0939>, e-mail: pablaz-1509calcaratuz@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-6785-8237>, e-mail: leg-z@mail.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-6982-2203>, e-mail: sabina.aygubova@mail.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0001-5389-507X>, e-mail: gulahmedovanaimat058@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты изучения эпизоотологических особенностей эхинококкоза собак, овец и коз в условиях Прикаспийского региона России, где распространенность указанной инвазии колеблется от 30 до 80%, а также испытания эффективности различных доз комплексного препарата Празибарс при данном паразитозе. В Прикаспийской низменности экстенсивность инвазии овец и коз эхинококком равна 38,6%, она проявляется экспансивно с охватом все новых и новых территорий. Некоторые исследователи указывают на то, что зараженность овец *Echinococcus granulosus* на территории Прикаспийского региона России ежегодно повышается на 0,2–0,3% и в среднем достигает 32,8%. Показано, что интенсивность и экстенсивность инвазии возбудителем эхинококкоза *Echinococcus granulosus* у чабанских собак в природных зонах вертикальной поясности региона в среднем составляет 3136,7 ± 343,0 экз/особь и 30,1% соответственно. В обследованных зонах у взрослых овец пастбищного содержания эхинококк выявляют в течение всего года с интенсивностью и экстенсивностью инвазии в среднем 22,3 ± 2,1 экз/особь и 23,0% соответственно. Установлено, что эхинококкоз регистрируется у взрослых овец и коз во всех обследованных районах Прикаспийского региона. При полном гельминтологическом вскрытии у овец и коз всех возрастных групп, кроме животных до года, в 1 мл эхинококковой жидкости обнаружены фертильные ларвоцисты, количество которых в среднем составило 23,02 ± 1,28 экз/особь. Показано, что в Прикаспийском регионе России, в том числе и Дагестане, эхинококкоз плотоядных и сельскохозяйственных животных широко распространен во всех зонах вертикальной поясности, что предполагает необходимость постоянного эпизоотологического контроля и мониторинга ситуации в отношении цестод семейства *Taeniidae*, в частности *Echinococcus granulosus*. Учитывая, что эхинококкоз собак и других плотоядных представляет масштабную социальную проблему и является опасным для человека гельминтозом, изыскание современных средств борьбы с этим паразитозом плотоядных является актуальной задачей. Проведенными исследованиями установлена высокая эффективность комплексного препарата Празибарс при индивидуальном однократном применении в смеси с фаршем в дозе 15,0 мг/кг живого веса при спонтанном эхинококкозе собак и других плотоядных.

Ключевые слова: овцы, козы, эхинококкоз, фертильные ларвоцисты, *Echinococcus granulosus*, чабанские собаки, инвазия, интенсинвазированность, экстенсинвазированность, Празибарс

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

Для цитирования: Кабардиев С. Ш., Биттиров А. М., Магомедшапиев Г. М., Мусаев З. Г., Айгубова С. А., Гюльяхмедова Н. Х. Эпизоотологические особенности эхинококкоза собак, овец и коз и меры борьбы с ним в условиях Прикаспийского региона России. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 319–325. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-319-325.

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

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Кабардиев Садрутдин Шамшитович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», 367000, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88, e-mail: pznivi05@mail.ru.

Epizootiological characteristics of echinococcosis in dogs, sheep and goats and measures to combat it in Caspian Sea region of Russia

S. Sh. Kabardiev¹, A. M. Bittirov², G. M. Magomedshapiev³, Z. G. Musaev⁴, S. A. Aygubova⁵, N. H. Gulakhmedova⁶

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

© Кабардиев С. Ш., Биттиров А. М., Магомедшапиев Г. М., Мусаев З. Г., Айгубова С. А., Гюльяхмедова Н. Х., 2022

¹ <https://orcid.org/0000-0001-6129-8371>, e-mail: pznivi05@mail.ru

² <https://orcid.org/0000-0003-2131-5020>, e-mail: bam_58a@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-1742-0939>, e-mail: pablaz-1509calcaratuz@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-6785-8237>, e-mail: leg-z@mail.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-6982-2203>, e-mail: sabina.aygubova@mail.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0001-5389-507X>, e-mail: gulahmedovanaimat058@gmail.com

SUMMARY

The paper presents the results of the study of the epizootiological characteristics of echinococcosis in dogs, sheep and goats in the Caspian Sea region of Russia where *Echinococcus* occurrence varies from 30 to 80%, as well as the results of tests of the complex product Prazibars (at different doses) for its effectiveness against this parasitosis. The extensity of *Echinococcus* invasion in sheep and goats in the Caspian Depression is 38.6%; it is expansive and affects more and more areas. Some researchers report that *Echinococcus granulosus* occurrence in sheep in the Caspian Sea region of Russia increases by 0.2–0.3% annually and averages 32.8%. It is demonstrated that *Echinococcus granulosus* invasion intensity and extensity in sheep dogs in the natural altitudinal zones of the region average 3,136.7 ± 343.0 parasites/animal and 30.1%, respectively. In the zones covered by the study, *Echinococcus* species are detected in adult pasture-raised sheep throughout the year, the invasion intensity and extensity average 22.3 ± 2.1 parasites/animal and 23.0%, respectively. It was found that echinococcosis was reported in adult sheep and goats in all the Caspian Sea region areas covered by the study. Complete helminthological necropsy revealed the presence of fertile larva cysts in 1 mL of echinococcal fluid in sheep and goats of all age groups, except for animals under 1 year of age; their number averaged 23.02 ± 1.28 larval cysts/animal. It is shown that echinococcosis is widely spread in carnivores and livestock across all altitudinal zones of the Caspian Sea region of Russia, including Dagestan, and this suggests the necessity of continuous epizootiological control and monitoring of the situation with respect to cestodes of the family *Taeniidae*, in particular *Echinococcus granulosus*. Since echinococcosis in dogs and other carnivores constitutes a large-scale social problem and is a helminthiasis that is dangerous for humans, seeking state-of-the-art ways and means to combat this parasitic disease of carnivores is an urgent challenge. Based on the results of the tests performed, the complex product Prazibars administered individually one time at a dose of 15.0 mg/kg of live weight in admixture with minced meat demonstrated high effectiveness against spontaneous echinococcosis in dogs and other carnivorous animals.

Key words: sheep, goats, echinococcosis, fertile larval cysts, *Echinococcus granulosus*, sheep dogs, invasion, intensity of invasion, extensity of invasion, Prazibars

Acknowledgements: This work was financially supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the framework of the Program of Fundamental Scientific Research of State Academies of Sciences for 2013–2020 in the area of “Molecular biological and nanobiotechnological methods of creating new generation biological products, technologies and methods of their application to combat especially dangerous infectious, parasitic and non-infectious diseases of animals”.

For citation: Kabardiev S. Sh., Bittirov A. M., Magomedshapiev G. M., Musaev Z. G., Aigubova S. A., Gyulakhmedova N. Kh. Epizootiological characteristics of echinococcosis in dogs, sheep and goats and measures to combat it in Caspian Sea region of Russia. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 319–325. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-319-325.

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

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

For correspondence: Sadrutdin Sh. Kabardiev, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Head of the Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 367000, Russia, Republic of Dagestan, Makhachkala, ul. Dakhadaeva, 88, e-mail: pznivi05@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

К одному из ведущих животноводческих регионов России относится Прикаспийский, в том числе Республика Дагестан, где отличительной чертой ведения животноводства является то, что животных два раза в год (весной и осенью) перегоняют на летние пастбища в горы и на зимние – на равнину. Это создает оптимальные условия для поддержания устойчивых синантропных очагов эхинококкоза на территории республики.

Эхинококкоз, возбудителем которого является *Echinococcus granulosus*, – одно из наиболее опасных паразитарных заболеваний, поражающее многие виды животных и человека и имеющее повсеместное распространение в мире, в том числе в России [1–16].

Многие авторы указывают на то, что болезни людей и животных, вызываемые эхинококком, имеют тенденцию к широкому распространению в различных регионах нашей страны [17–25].

В Прикаспийском регионе России, включающем Дагестан, эхинококкоз плотоядных и сельскохозяйственных животных распространен во всех зонах вертикальной поясности, что предполагает необходимость осуществления постоянного эпизоотологического контроля и мониторинга ситуации в отношении цестод семейства *Taeniidae*, в частности возбудителя эхинококкоза [22, 25–28].

В равнинной зоне вертикальной поясности субъектов Северного Кавказа экстенсивность инвазии эхинококками бродячих собак достигает до 80%. Численность бродячих собак только в Республике Дагестан, по данным различных источников, составляет приблизительно 40 тыс. особей, что, в свою очередь, серьезно осложняет эпизоотическую ситуацию по эхинококкозу овец и коз в регионе.

В Прикаспийской низменности экстенсивность инвазии овец эхинококками составляет 38,6% и про-

является экспансивно с охватом все новых и новых территорий. Некоторые исследователи указывают на то, что зараженность овец *E. granulosus* в Прикаспийском регионе России ежегодно повышается на 0,2–0,3% и в среднем достигает 32,8% [24, 25].

В целях улучшения эпизоотической ситуации по эхинококкозу в Прикаспийском регионе России необходимо проводить постоянный мониторинг эпизоотологических особенностей заболевания и активности возбудителя зоонозной инвазии у сельскохозяйственных животных.

Учитывая, что эхинококкоз собак и других плотоядных представляет масштабную социальную проблему [2, 17, 18] и является опасным для человека гельминтозом, изыскание современных средств борьбы с этим паразитозом является актуальной задачей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение развития и распространения эхинококкоза у собак с разным типом содержания проводили при исследовании проб фекалий методом копроовоскопии.

Особенности биологии *E. granulosus*, вызывающего эхинококкоз у овец разного возраста, изучали с применением методики полного гельминтологического вскрытия К. И. Скрябина (1928).

При исследовании внутренних органов от каждой особи подсчитывали количество ларвоцист *E. granulosus* и определяли средние интенс- и экстенсивности. Для подсчета яиц *E. granulosus* в 1 г фекалий и протосколексов в 1 мл эхинококковой жидкости использовали счетную камеру ВИГИСа.

Определение эффективности различных доз нового биогенного мультидисперсного комплексного

препарата Празибарс провели в условиях с. п. Герпегеж Кабардино-Балкарской Республики на 13 собаках в возрасте до 2 лет при лечении спонтанного эхинококкоза.

Животных разделили на две опытные ($n = 10$) и одну контрольную ($n = 3$) группы. Собакам первой и второй групп, спонтанно зараженным маритами эхинококка, индивидуально однократно задавали комплексный препарат Празибарс в дозе 10,0 и 15,0 мг/кг живого веса соответственно. Животные контрольной группы препарат не получали.

На 3, 5, 7, 10 и 15-е дни после проведенного лечения фецес всех участвовавших в опыте собак подвергли копроовоскопии.

Всем животным были созданы одинаковые условия ухода, кормления и содержания, вели ежедневное наблюдение за ними.

Все эксперименты проводились с соблюдением этических норм в строгом соответствии с требованиями Директивы Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых в научных целях.

Полученные результаты исследований подвергнуты компьютерной обработке с помощью программы «Биометрия».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения инвазированности чабанских собак и овец пастбищного содержания *E. granulosus* по зонам вертикальной поясности региона представлены в таблицах 1 и 2.

Установлено, что экстенсивность и интенсивность инвазии эхинококком чабанских собак составила: в горной зоне – 32,6% и 2948 ± 344; в предгорье – 29,3%

Таблица 1
Экстенсивность и интенсивность эхинококковой инвазии у чабанских собак по зонам вертикальной поясности региона

Table 1
Echinococcus invasion extensity and intensity in sheep dogs by altitudinal zones of the region

Природно-климатические зоны	Обследовано особей	Заражено особей	Экстенсивность инвазии, %	Интенсивность инвазии, экз/особь
Горная	46	15	32,6	2948 ± 344
Предгорная	58	17	29,3	3698 ± 388
Равнинная	49	14	28,6	2764 ± 297
Всего	153	46	–	–
В среднем	–	–	30,1	3136,7 ± 343,0

Таблица 2
Экстенсивность и интенсивность эхинококковой инвазии у овец пастбищного содержания по зонам вертикальной поясности региона

Table 2
Echinococcus invasion extensity and intensity in pasture-raised sheep by altitudinal zones of the region

Природно-климатические зоны	Обследовано, гол.	Инвазировано, гол.	Экстенсивность инвазии, %	Интенсивность инвазии, экз/особь
Горная	100	25	25,0	23,6 ± 2,3
Предгорная	100	20	20,0	20,5 ± 1,9
Равнинная	100	24	24,0	22,8 ± 2,1
Всего	300	69	–	–
В среднем	–	–	23,0	22,3 ± 2,1

и 3698 ± 388 и на равнине – 28,6% и 2764 ± 297 ; в среднем – 30,1% и $3136,7 \pm 343,0$ экз/особь соответственно.

Экстенсивность и интенсивность инвазии *E. granulosus* овец пастбищного содержания составила: в горной зоне – 25,0% и $23,6 \pm 2,3$ экз/особь; в предгорье – 20,0% и $20,5 \pm 1,9$ экз/особь; на равнине – 24,0% и $22,8 \pm 2,1$ экз/особь; в среднем по региону – 23,0% и $22,3 \pm 2,1$ экз/особь соответственно.

На следующем этапе изучали фертильность ларвоцист *E. granulosus* по результатам полного гельминтологического вскрытия овец разного возраста.

Полное отсутствие фертильных ларвоцист *E. granulosus* зарегистрировано у овец до одного года.

У двухлетних животных ооцисты обнаружены в количестве $12,4 \pm 0,63$ экз/особь при среднем содержании протосколексов в 1 мл эхинококковой жидкости $0,83 \pm 0,076$ тыс. экз.; у трехлетних овец количество ларвоцист составило $18,2 \pm 1,03$ экз/особь и протосколексов в них – $1,40 \pm 0,21$ тыс. экз.; у четырехлетних – $20,5 \pm 1,17$ экз/особь и $1,92 \pm 0,17$ тыс. экз.; у пятилетних – $27,3 \pm 1,69$ экз/особь и $2,58 \pm 0,26$ тыс. экз.; у шестилетних – $36,7 \pm 1,88$ экз/особь и $3,06 \pm 0,49$ тыс. экз. соответственно.

В результате проведенных исследований установлена прямая зависимость между возрастом животных и количеством фертильных ларвоцист и протосколексов.

При полном гельминтологическом вскрытии овец и коз всех возрастных групп, кроме молодняка до года, в 1 мл эхинококковой жидкости обнаружены фертильные ларвоцисты *E. granulosus* в среднем количестве, равном $23,02 \pm 1,28$ экз/особь.

Проведенные исследования указывают на возрастные роли и значимости штаммов *E. granulosus* овечьего варианта.

При гельминтологическом исследовании тонкого отдела кишечника 20 безнадзорных щенков 3–6-месячного возраста у 17 из них выявлены яйца *E. granulosus*, что адекватно экстенсивности инвазии в 85,0%.

Экстенсивность инвазии эхинококком безнадзорных собак в возрасте 1–2 лет и взрослых особей со-

вила соответственно 95,0 и 75,0% при интенсивности инвазии соответственно $7,6 \pm 1,9$ и $11,8 \pm 3,0$ тыс. экз/особь, что подтверждает высокие инвазионные свойства *E. granulosus* у данных животных.

В Кизлярской зоне отгонных пастбищ на территории КФХ «Бухты» было собрано 20 проб кала от прикормленных собак. При исследовании в четырех из них обнаружены яйца тениид, что составляет 20,0%.

По данным Комитета по ветеринарии Республики Дагестан за 2020 г., при проведении послеубойной ветеринарной экспертизы туш поражения, вызванные эхинококкозом, обнаружены: в 4407 тушах крупного рогатого скота, в 1899 – овец и коз, в 97 – свиней. В контексте борьбы с эхинококкозом в Дагестане в 2020 г. обработано 7509 собак.

Высокая экстенсивность инвазии эхинококком (29,0%) при средней интенсивности ($14,50 \pm 1,04$ экз/особь) отмечена у овец и коз в предгорной и горной зонах Кабардино-Балкарской Республики. Через эти территории осуществляется перегон овец и коз на летние пастбища, что приводит к высокой степени загрязнения территории пастбищ яйцами цестод семейства тениид, в том числе *E. granulosus*.

В Республике Ингушетия поголовье овец и коз заражено эхинококками с экстенсивностью инвазии 20,0–27,0%. Биологически активным и функционирующим видом *E. granulosus* у животных в регионе является только овечий вариант.

В Кабардино-Балкарской Республике у овец эхинококкоз регистрируется с экстенсивностью инвазии 12,0–18,6%, при этом все цисты *E. granulosus* являются фертильными, то есть способными активно заражать восприимчивых животных.

В местах массового убоя скота были исследованы на наличие эхинококковой инвазии туши и внутренние органы (печень, легкие, селезенка) овец в возрасте 1,5–2 лет.

Как видно из таблицы 3, всего исследовано 1062 внутренних органа подвергнутых убоя овец, в 146 пробах обнаружена инвазия *E. granulosus*, что составляет 13,7%.

Таблица 3

Результаты исследования внутренних органов овец на наличие эхинококковой инвазии

Table 3

Results of tests of internal organs of sheep for *Echinococcus* invasion

№ п/п	Район происхождения поголовья	Количество исследованных органов	Выявлено положительных	
			количество проб	%
1	Гунибский район	110	13	11,8
2	Хунзахский район	94	12	12,8
3	Кумторкалинский район	100	14	14
4	Ахтынский район	100	15	15
5	Гергебильский район	100	15	15
6	Акушинский район	118	17	14,4
7	Тляртинский район	110	14	12,7
8	Кулинский район	130	16	12,3
9	Лакский район	100	13	13
10	Рутульский район	100	17	17
	Всего	1062	146	13,7

На этой же территории исследовано 70 проб фекалий собак, в 33 (47,1%) из них найдены яйца тениидного типа, а в 7 пробах были обнаружены половозрелые особи *Toxocara canis*.

В селе Шангода Гунибского района исследован материал от 45 собак и 55 убитых овец, при этом в 13 (28,9%) и 15 (27,3%) пробах соответственно обнаружены яйца тениидного типа.

При гельминтокопрологическом исследовании 30 проб фекалий от бродячих собак, собранных на территории Кировского района города Махачкалы, в 15 (50,0%) образцах выявлено наличие яиц тениидного типа.

Эффективность различных доз комплексного препарата Празибарс изучали при спонтанном эхинококкозе собак в условиях с. п. Герпегеж Кабардино-Балкарской Республики на 13 животных 8–24-месячного возраста.

В результате проведенных исследований установили, что экстенсивность и интенсификация изучаемого средства при индивидуальном однократном применении в дозе 10,0 мг/кг живого веса в смеси с фаршем при спонтанном эхинококкозе собак составила соответственно 60,00 и 67,22%.

Комплексный препарат Празибарс при однократном введении в смеси с фаршем в дозе 15,0 мг/кг живого веса показал 100%-ю экстенсивность и интенсификацию при спонтанном эхинококкозе собак.

Инвазированность контрольных животных подтверждена проведенными исследованиями и составила в расчете на 10 г свежих фекалий от $82,2 \pm 7,3$ до $84,5 \pm 7,7$ экз. яиц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Интенсивность и экстенсивность инвазии возбудителем эхинококкоза *E. granulosus* у чабанских собак в обследованных зонах региона в среднем составили соответственно $3136,7 \pm 343,0$ экз/особь и 30,1%.

В зонах вертикальной поясности Прикаспийского региона у взрослых овец пастбищного содержания *E. granulosus* встречается в течение всего года с интенсивностью и экстенсивностью инвазии в среднем $22,3 \pm 2,1$ экз/особь и 23,0% соответственно. Показано, что эхинококкоз регистрируется у взрослых овец во всех обследованных районах региона.

У овец всех возрастных групп, кроме животных до года, при полном гельминтологическом вскрытии в 1 мл эхинококковой жидкости обнаружены фертильные ларвоцисты, среднее количество которых было равно $23,02 \pm 1,28$ экз/особь.

Экстенсивность инвазии эхинококком безнадзорных собак в возрасте от года до двух лет и взрослых особей составила соответственно 95,0 и 75,0% при интенсивности инвазии соответственно $7,6 \pm 1,9$ и $11,8 \pm 3,0$ тыс. экз/особь, что подтверждает высокие инвазионные свойства *E. granulosus* у данных животных.

Уровень активности эпизоотического процесса при эхинококкозной инвазии у прикормленных собак, овец и коз во всех зонах вертикальной поясности республики находится во взаимной зависимости. Главными причинами распространенности инвазии в экосистеме является отсутствие плановой дегельминтизации прикормленных собак и несоблюдение мероприятий по обращению с безнадзорными животными, а также игнорирование санитарно-гигиенического просвещения населения.

Установлено, что комплексный препарат Празибарс при однократном индивидуальном применении в смеси с фаршем в дозе 15,0 мг/кг живого веса показал 100%-ю экстенсивность и интенсификацию при спонтанном эхинококкозе собак.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Байков В. С. Эпизоотологическая характеристика эхинококкоза диких псовых в условиях Краснодарского края. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: материалы докладов научной конференции Всесоюзного общества гельминтологов*. М.: ВИГИС; 1999; 148–150.
2. Биттиров А. М. Паразитарные зоонозы как проблема санитарии и гигиены в мире и в Российской Федерации. *Гигиена и санитария*. 2018; 97 (3): 208–212. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-3-208-212.
3. Блохина С. В. Распространение эхинококкоза у сельскохозяйственных животных в Омской области. *Труды Всероссийского научно-исследовательского института ветеринарной энтомологии и арахнологии*. Тюмень; 2007; 49: 47–53.
4. Всемирная организация здравоохранения. Эхинококкоз. Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>.
5. Сорокин В. В., Колесников В. И. Распространение эхинококкоза в Ставропольском крае. *Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства*. 2010; 3 (1): 129–131. eLIBRARY ID: 16452642.
6. Горохов В. В., Самойловская Н. А., Пешков Р. А. Прогноз эпизоотической ситуации в Российской Федерации по основным гельминтозам на 2014 год. *Российский паразитологический журнал*. 2014; (2): 32–33.
7. Гузеева Т. М. Состояние заболеваемости паразитарными болезнями в Российской Федерации и задачи в условиях реорганизации службы. *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2008; (1): 3–11. eLIBRARY ID: 10333863.
8. Кабардиев С. Ш., Биттиров А. М., Пежева М. Х., Карпущенко К. А. Гельминтофауна класса *Cestoda* и ее видовые сочетания у корсака в Прикаспийской низменности Дагестана. *Ветеринария и кормление*. 2015; 6: 6–8. eLIBRARY ID: 25039220.
9. Романенко Н. А., Подопригора Г. И., Чистяков Д. А., Акимова Р. Ф., Новосельцев Г. И., Дарченкова Н. Н. и др. Проблема эхинококкозов в Российской Федерации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1994; 6: 43–45.
10. Craig P., Mastin A., van Kesteren F., Boufana B. *Echinococcus granulosus*: Epidemiology and state-of-the-art of diagnostics in animals. *Vet. Parasitol.* 2015; 213 (3–4): 132–148. DOI: 10.1016/j.vetpar.2015.07.028.
11. Шамхалов В. М. Экология возбудителей эхинококкоза, ценуроза, тениидного цистицеркоза животных, эпизоотология этих заболеваний и меры борьбы в юго-восточной зоне Северного Кавказа: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. М.; 1988. 46 с.
12. Tashani O. A., Zhang L. H., Boufana B., Jegi A., McManus D. P. Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2002; 96 (4): 369–381. DOI: 10.1179/000349802125000952.
13. Rosenzvit M. C., Zhang L. H., Kamenetzky L., Canova S. G., Guarnera E. A., McManus D. P. Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitology*. 1999; 118 (Pt. 5): 523–530. DOI: 10.1017/s0031182099004035.
14. Jenkins D. J. *Echinococcus* in Australia: The role of wildlife in transmission, with particular reference to South-Eastern Australia. In: *Cestode Zoonoses: Echinococcosis and Cysticercosis – An Emergent and Global Problem*. Ed. by P. Craig, Z. Pawlowski. IOS Press; 2002; 327–332.
15. Macpherson C. N. L., Wachira T. W. M. Cystic echinococcosis in Africa south of the Sahara. In: *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and Middle Eastern Countries with special reference to Morocco*. Eds. F. L. Andersen, H. Ouhelli, M. Kachani. Provo: Brigham Young University Print Services; 1997; 245–277.
16. Macpherson C. N. L. Epidemiology of *Echinococcus granulosus* in transhumant situations. In: *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern*. Ed. by J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, Z. S. Pawlowski. Paris: WHO/OIE; 2001; 156–163. Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42427/929044522X.pdf?sequence=1>.
17. Биттиров А. М., Василевич Ф. И., Калабеков М. И., Кешоков Р. Х., Соттаев М. Х. Санитарное просвещение населения и способы обеспечения гигиенической безопасности в отношении зоонозных инвазий: учебное пособие. Нальчик–Москва: Дагестанский государственный университет; 2010. 42 с.
18. Сарбашева М. М., Биттирова А. А., Атабиева Ж. А., Биттиров А. М. Модель санитарно-гельминтологического надзора и поиск средств

дезинвазии почвы и воды в очагах тениринхоза в условиях Кабардино-Балкарской Республики. *Гигиена и санитария*. 2014; 93 (3): 31–34. eLIBRARY ID: 21830987.

19. Залиханов М. Ч., Биттиров А. М., Бегиева С. А. Современные биологические угрозы и мировые регламенты для обеспечения биобезопасности продуктов животноводства. *Селекция на современных популяциях отечественного молочного скота как основа импортозамещения животноводческой продукции: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (5–8 июня 2018 г.)*. Белгород: КОНСТАНТА; 2018; 245–253.

20. Шихалиева М. А., Атабиева Ж. А., Колодий И. В., Биттиров А. М., Сарбашева М. М., Бичиева М. М., Биттиров А. М. Структура паразитозов равнинного пояса региона Северного Кавказа. *Ветеринарная патология*. 2012; 2 (40): 109–113. eLIBRARY ID: 17878428.

21. Андреев О. Н., Бессонов А. С. Эхинококкозы и гидатидозы животных в Центральном регионе России. *Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями: сборник статей по материалам международной научной конференции*. М.; 2004; 5: 25–27. eLIBRARY ID: 27392457.

22. Биттиров А. М., Шипшев Б. М., Кузнецов В. М., Тохаева А. И., Мидова Л. А., Биттирова А. А. и др. Биоэкология опасных зоонозов паразитарной этиологии в южных регионах России. *Ветеринария*. 2014; 6: 33–35. eLIBRARY ID: 21637070.

23. Биттиров А. М., Кабардиев С. Ш., Кабардиев Ш. С., Биттиров И. А. Эпизоотология чистного эхинококкоза у благородного оленя в охотничьих хозяйствах Кабардино-Балкарии. *Ветеринария и кормление*. 2017; 5: 45–46. eLIBRARY ID: 30352862.

24. Атаев А. М. Эпизоотический процесс и активно функционирующие штаммы *Echinococcus granulosus* у животных Дагестана. *Вестник ветеринарии*. 1997; 3: 32–37.

25. Эльдарова Л. Х. Особенности биоэкологии и эпизоотологии тениридозов собак и эхинококкоза сельскохозяйственных животных в Дагестане: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.; 2017. 25 с.

26. Кабардиев С. Ш., Биттиров А. М., Шипшев Б. М., Калабеков А. А. Вопросы биоэкологии и патологии эхинококкоза овец и собак в регионе Центрального Кавказа. *Теория и практика инновационного развития аграрной науки: сборник научных статей*. Махачкала: Эпоха; 2014; 402–409. eLIBRARY ID: 25544083.

27. Кабардиев С. Ш., Биттиров А. М., Газимагомедов М. Г., Мусаев З. Г., Корсаков Н. Т. Особенности эпизоотической активности эхинококкоза овец в разрезе горных массивов Северного Кавказа. *Успехи современного естествознания*. 2015; 1-1: 24–25. Режим доступа: <https://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=34770>.

28. Малярчук В. И., Солопов Н. В. Синтетические пиретроиды как акарициды при псороптозе овец. *Проблемы ветеринарной медицины Северного Казахстана и Сибири*. Астана; 2001; 78–81. eLIBRARY ID: 25074644.

REFERENCES

1. Baikov V. S. Epizootologicheskaya kharakteristika ekhinokokkoza dikikh psovykh v usloviyakh Krasnodarskogo kraja = Epizootological characteristics of echinococcosis of wild canines in the Krasnodar Krai. *Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami: materialy dokladov nauchnoi konferentsii Vsesoyuznogo obshchestva gel'mintologov = Theory and practice of combating parasitic diseases: materials of the reports of the scientific conference of the All-Union Society of Helminthologists*. Moscow: VIGIS; 1999; 148–150. (in Russ.)

2. Bittirov A. M. Parasitic zoonoses as a global and local problem of sanitation and hygiene over the world and in the Russian Federation. *Hygiene and Sanitation*. 2018; 97 (3): 208–212. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-3-208-212. (in Russ.)

3. Blokhina S. V. Rasprostraneniye ekhinokokkoza u sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh v Omskoi oblasti = The spread of echinococcosis in farm animals in the Omsk Oblast. *Proceedings of the All-Russian Scientific Research Institute of Veterinary Entomology and Arachnology*. Tyumen; 2007; 49: 47–53. (in Russ.)

4. World Health Organization. Echinococcosis. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/echinococcosis>.

5. Sorokin V. V., Kolesnikov V. I. Rasprostraneniye ekhinokokkoza v Stavropol'skom krae = Spread of echinococcosis in the Stavropol Krai. *Sbornik nauchnykh trudov Stavropol'skogo nauchno-issledovatel'skogo instituta zhivotnovodstva i kormoproizvodstva*. 2010; 3 (1): 129–131. eLIBRARY ID: 16452642. (in Russ.)

6. Gorohov V. V., Samoylovskaya N. A., Peshkov R. A. Forecast of epizootic situation on main helminthosis in Russian Federation for the year 2014. *Russian Journal of Parasitology*. 2014; (2): 32–33. (in Russ.)

7. Guzeeva T. M. The incidence of parasitic diseases in the Russian Federation and tasks under service reorganization. *Medical Parasitology and Parasitic Diseases*. 2008; (1): 3–11. PMID: 18368712. (in Russ.)

8. Kabardiev S. Sh., Bittirov A. M., Pezheva M. Kh., Karpuschenko K. A. Helminthofauna classa *Cestoda* and its species combinations in korsk Caspian lowland Dagestan. *Veterinariya i kormlenie*. 2015; 6: 6–8. eLIBRARY ID: 25039220. (in Russ.)

9. Romanenko N. A., Podoprigora G. I., Chistyakov D. A., Akimova R. F., Novosiltsev G. I., Darchenkova N. N., et al. Problema ekhinokokkozov v Rossijskoi Federatsii = The problem of echinococcosis in the Russian Federation. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1994; 6: 43–45. (in Russ.)

10. Craig P., Mastin A., van Kesteren F., Boufana B. *Echinococcus granulosus*: Epidemiology and state-of-the-art of diagnostics in animals. *Vet. Parasitol.* 2015; 213 (3–4): 132–148. DOI: 10.1016/j.vetpar.2015.07.028.

11. Shamkhalov V. M. Ekologiya vobzuditelei ekhinokokkoza, tsenuroza, tenuikol'nogo tsistitserkoza zhivotnykh, epizootologiya etikh zabolovanii i mery bor'by v yugo-vostochnoi zone Severnogo Kavkaza = Ecology of causative agents of echinococcosis, coenurosis, tenuicol cysticercosis of animals, epizootology of these diseases and control measures in the south-eastern zone of the North Caucasus: author's thesis ... Doctor of Veterinary Sciences. Moscow; 1988. 46 p. (in Russ.)

12. Tashani O. A., Zhang L. H., Boufana B., Jegi A., McManus D. P. Epidemiology and strain characteristics of *Echinococcus granulosus* in the Benghazi area of eastern Libya. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 2002; 96 (4): 369–381. DOI: 10.1179/000349802125000952.

13. Rosenzvit M. C., Zhang L. H., Kamenetzky L., Canova S. G., Guarnera E. A., McManus D. P. Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitology*. 1999; 118 (Pt. 5): 523–530. DOI: 10.1017/s0031182099004035.

14. Jenkins D. J. Echinococcus in Australia: The role of wildlife in transmission, with particular reference to South-Eastern Australia. In: *Cestode Zoonoses: Echinococcosis and Cysticercosis – An Emergent and Global Problem*. Ed. by P. Craig, Z. Pawlowski. IOS Press; 2002; 327–332.

15. Macpherson C. N. L., Wachira T. W. M. Cystic echinococcosis in Africa south of the Sahara. In: *Compendium on cystic echinococcosis in Africa and Middle Eastern Countries with special reference to Morocco*. Eds. F. L. Andersen, H. Ouhelli, M. Kachani. Provo: Brigham Young University Print Services; 1997; 245–277.

16. Macpherson C. N. L. Epidemiology of *Echinococcus granulosus* in transhumant situations. In: *WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern*. Ed. by J. Eckert, M. A. Gemmell, F.-X. Meslin, Z. S. Pawlowski. Paris: WHO/OIE; 2001; 156–163. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42427/929044522X.pdf?sequence=1>.

17. Bittirov A. M., Vasilevich F. I., Kalabekov M. I., Keshokov R. Kh., Sot-taev M. Kh. Public health awareness raising and hygiene measures against zoonotic invasions: a study guide. Nalchik–Moscow: Dagestan State University; 2010. 42 p. (in Russ.)

18. Sarbasheva M. M., Bittirova A. A., Atabieva Zh. A., Bittirov A. M. Model for sanitary-helminthological supervision and search for the measures for disinfection of soil and water in the beef tapeworm infection foci in conditions of Kabardino-Balkaria. *Hygiene and Sanitation*. 2014; 93 (3): 31–34. eLIBRARY ID: 21830987. (in Russ.)

19. Zalikhanov M. Ch., Bittirov A. M., Begieva S. A. Contemporary biological threats and world regulations for the provision of biosafety animal products. *Seleksiya na sovremennykh populatsiyakh otechestvennogo molochnogo skota kak osnova importozameshcheniya zhivotnovodcheskoi produktsii = Selection in existing populations of domestic dairy cattle as a basis for animal product import substitution: proceedings of the All-Russia Research-to-Practice Conference with international participation (5–8 June 2018)*. Belgorod: KONSTANTA; 2018; 245–253. (in Russ.)

20. Shichalieva M. A., Atabieva Zh. A., Kolodiy I. V., Bittirov A. M., Sarbasheva M. M., Bichieva M. M., Bittirov A. M. Struktura parazitotsenozov ravnin-nogo poyasa regiona Severnogo Kavkaza = Structure of parasite cenoses of the flatland belt of the North Caucasus region. *Veterinarnaya patologiya*. 2012; 2 (40): 109–113. eLIBRARY ID: 17878428. (in Russ.)

21. Andreyanov O. N., Bessonov A. S. Ekhinokokkozy i gidatidozy zhivotnykh v Tsentral'nom regione Rossii = Echinococcoses and hydatidosis of animals in Central Russia. *Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami = Theory and practice of parasitic disease control: collection of papers adapted from the proceedings of the international scientific conference*. Moscow; 2004; 5: 25–27. eLIBRARY ID: 27392457. (in Russ.)

22. Bittirov A. M., Shipshev B. M., Kuznetsov V. M., Tokhaeva A. I., Midova L. A., Bittirova A. A., et al. Information about bioecology dangerous zoonoses parasitic etiology in south regions Russia. *Veterinariya*. 2014; 6: 33–35. eLIBRARY ID: 21637070. (in Russ.)

23. Bittirov A. M., Kabardiev S. Sh., Kabardiev Sh. S., Bittirov I. A. Epizootology of viral echinococcosis in a reindeer in the hunting farms of the Kabardino-Balkaria. *Veterinariya i kormlenie*. 2017; 5: 45–46. eLIBRARY ID: 30352862. (in Russ.)

24. Aтаев А. М. Эпизоотический процесс и активно функционирующие штаммы *Echinococcus granulosus* у животных Дагестана = Epizootic pro-

cess and actively functioning strains of *Echinococcus granulosus* in animals in Dagestan. *Vestnik veterinarii*. 1997; 3: 32–37. (in Russ.)

25. El'darova L. Kh. Osobennosti bioekologii i epizootologii teniidovzov sobak i ekhinokokkoza sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh v Dagestane = Characteristics of bioecology and epizootiology of *Taeniidae* infection in dogs and echinococcosis in livestock in Dagestan: author's abstract of Candidate of Science (Biology) thesis. Moscow; 2017. 25 p. (in Russ.)

26. Kabardiev S. Sh., Bittirov A. M., Shipshev B. M., Kalabekov A. A. Voprosy bioekologii i patologii ekhinokokkoza ovets i sobak v regione Tsentral'nogo Kavkaza = Issues of bioecology and pathology of echinococcosis in sheep and dogs in the Central Caucasus region. *Teoriya i praktika innovatsionnogo razvitiya agrarnoi nauki = Theory and practice of innovative development of agricultural science: collection of scientific papers*. Makhachkala: Epokha; 2014; 402–409. eLIBRARY ID: 25544083. (in Russ.)

27. Kabardiev S. Sh., Bittirov A. M., Gazimagomedov M. G., Musaev Z. G., Korsakov N. T. Features epizootic activity echinococcosis sheep by mountain arrays North Caucasus. *Advances in current natural sciences*. 2015; 1-1: 24–25. Available at: <https://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=34770>. (in Russ.)

28. Malyarchuk V. I., Solopov N. V. Sinteticheskie piretroidy kak akarisidy pri psoroptoze ovets = Synthetic pyrethroids acting as acaricides in *Psoroptes*-infected sheep. *Problemy veterinarnoi meditsiny Severnogo Kazakhstana i Sibiri*. Astana; 2001; 78–81. eLIBRARY ID: 25074644. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 03.06.2022

Поступила после рецензирования / Revised 05.07.2022

Принята к публикации / Accepted 22.07.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Кабардиев Садрутдин Шамшитович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Биттиров Анатолий Мурашевич, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории по изучению инвазионных болезней сельскохозяйственных животных и птиц Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

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

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

Айгубова Сабина Анатольевна, научный сотрудник лаборатории коллективного пользования Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Гюльяхмедова Наймат Хункеровна, научный сотрудник лаборатории коллективного пользования Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия.

Sadrutdin Sh. Kabardiev, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Head of the Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.

Anatoly M. Bittirov, Doctor of Science (Biology), Chief Researcher, Laboratory for the Study of Invasive Diseases of Farm Animals and Poultry, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.

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

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

Sabina A. Aigubova, Researcher, Laboratory of Collective Use, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.

Naymat Kh. Gyulakhmedova, Researcher, Laboratory of Collective Use, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia.



Метаболические нарушения как фактор патогенеза инфекционных заболеваний крупного рогатого скота

А. Д. Алексеев

ГУФСИН России по Свердловской области, г. Екатеринбург, Россия;
ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Уральский ГАУ), г. Екатеринбург, Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-0418-4498>, e-mail: alekseev.urgau@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Немаловажным фактором, влияющим на продуктивность крупного рогатого скота, является удовлетворение потребности животных в питательных веществах, макро- и микроэлементах. Особенно чувствительны к погрешностям кормления высокопродуктивные коровы, характеризующиеся высоким обменом веществ. У таких животных даже при незначительном дефиците питательных и минеральных веществ возникают метаболические нарушения, на фоне которых развиваются иммунодефицитные состояния и снижается устойчивость к инфекционным агентам, увеличивается восприимчивость к инфицированию патогенной и условно-патогенной микробиотой. Кроме того, при некоторых инфекциях, например при острых респираторных заболеваниях, также возникают метаболические нарушения, иммуносупрессия, снижается общая резистентность организма, в результате чего развиваются микст-инфекции. Все это является причиной низкой эффективности вакцинации крупного рогатого скота против основных инфекционных заболеваний. В статье представлены результаты испытания иммунометаболического растительно-тканевого препарата «Видорал», разработанного в ФГБОУ ВО Уральский ГАУ с целью профилактики иммунодефицитных состояний крупного рогатого скота различного генеза. Препарат применяли подкожно в дозе 0,025 мл/кг живой массы глубокопестельным коровам и телятам, у которых выявили незначительную анемию, эритроцитопению, лейкоцитоз, лимфоцитоз и моноцитоз, повышенный уровень скорости оседания эритроцитов, что является свидетельством наличия воспалительных процессов в организме животных. Через 14 дней производили отбор крови для проведения гематологических и биохимических исследований. Показано, что препарат нормализует обменные процессы в организме животных, увеличивает гемопоз, снижает воспаление. Установлено, что введение «Видорала» в сочетании с иммунизацией против инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи, респираторно-синцитиальной инфекции и парагриппа типа 3 стимулирует у коров и телят выработку специфических антител к возбудителям указанных инфекций.

Ключевые слова: метаболические нарушения, крупный рогатый скот, метаболический иммунодефицит, вторичный иммунодефицит, острые респираторные заболевания крупного рогатого скота, инфекции дистального отдела конечностей крупного рогатого скота, некробактериоз, стафилококкоз, стрептококкоз, пастереллез, инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея, парагрипп-3, респираторно-синцитиальная инфекция

Для цитирования: Алексеев А. Д. Метаболические нарушения как фактор патогенеза инфекционных заболеваний крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 326–334. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-326-334.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Алексеев Анатолий Дмитриевич, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры инфекционной и незаразной патологии ФГБОУ ВО Уральский ГАУ; начальник ветеринарной службы – главный государственный ветеринарный инспектор ГУФСИН России по Свердловской области, подполковник внутренней службы, 620019, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, 4а, e-mail: alekseev.urgau@mail.ru.

Metabolic disorders as a factor in pathogenesis of infectious diseases in cattle

A. D. Alekseev

Main Directorate of the Federal Penitentiary Service of Russia for the Sverdlovsk Oblast, Ekaterinburg, Russia;
FSBEI HE "Urals State Agrarian University" (FSBEI HE Ural SAU), Ekaterinburg, Russia;
<https://orcid.org/0000-0002-0418-4498>, e-mail: alekseev.urgau@mail.ru

SUMMARY

An important factor affecting the performance of cattle is the satisfaction of animal needs in nutrients, macro- and microelements. High-yielding dairy cows with intense metabolism are especially sensitive to errors in feeding practices, because even minor nutritional or mineral deficiencies cause metabolic disorders leading to immunodeficiency conditions, reduced resistance to infectious agents and raised sensitivity to infections with pathogenic and opportunistic microorganisms. Besides some infections, for example acute respiratory diseases, also result in metabolic disorders, immunosuppression, decrease in the overall resistance of the organism and ultimately in mixed infections. All this is the reason for low efficacy of vaccination against major infectious diseases. The paper presents the results of testing of plant tissue product "Vidorol", developed by the FSBEI HE Ural SAU for prevention of immunodeficiency conditions in cattle, caused by different factors. The product was injected subcutaneously at a dose of 0.025 ml/kg of live weight to cows in late gestation and calves showing mild anemia, low red blood cells counts, leukocytosis, high lymphocyte and monocyte counts and elevated erythrocyte sedimentation rate, which suggest inflammatory processes in the animal body.

Fourteen days post injection blood was collected for hematological and biochemical testing. It was demonstrated that the product restores the animal metabolism, improves hematopoiesis and reduces inflammation. It was established that injection of "Vidorol" in combination with vaccination against infectious rhinotracheitis, viral diarrhea, infection with respiratory syncytial virus and parainfluenza-3 virus induced generation of specific antibodies against the abovementioned infections.

Keywords: metabolic disorders, cattle, metabolic immunodeficiency, secondary immunodeficiency, acute bovine respiratory diseases, foot infections in cattle, foot rot, staphylococcal infection, streptococcal infections, pasteurellosis, infectious rhinotracheitis, viral diarrhea, parainfluenza-3, infection with respiratory syncytial virus

For citations: Alekseev A. D. Metabolic disorders as a factor in pathogenesis of infectious diseases in cattle. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 326–334. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-326-334.

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

For correspondence: Anatoliy D. Alekseev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor of the Department of Infectious and Non-Infectious Pathology, FSBEI HE Ural SAU; Head of the Veterinary Service – Chief State Veterinary Inspector of the Main Directorate of the Federal Penitentiary Service of Russia for the Sverdlovsk Region, lieutenant colonel of internal service, 620019, Russia, Ekaterinburg, ul. Repina, 4a, e-mail: alekseev.urgau@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире, учитывая санкции со стороны коллективного Запада и ответные контрсанкции, продовольственная безопасность Российской Федерации имеет немаловажное значение. Политика импортозамещения позволила отечественным производителям значительно увеличить объемы выпускаемого молока и молочной продукции.

Рентабельность молочного животноводства при промышленных технологиях содержания крупного рогатого скота зависит от трех факторов:

- 1) генетический потенциал стада;
- 2) полноценное кормление;
- 3) эпизоотическое благополучие [1–3].

Разведение крупного рогатого скота нацелено на повышение его молочной продуктивности, что достигается интенсификацией обменных процессов в организме высокопродуктивных коров. Для получения высоких удоев рационы животных должны быть сбалансированы по содержанию питательных веществ, макро- и микроэлементов. Вместе с тем повышение продуктивности коров способствует снижению их общей резистентности, что является причиной более высокой восприимчивости к инфекционным патогенам [1–3]. Снижение резистентности обусловлено нарушением обмена веществ в организме животных, приводящим к возникновению иммунодефицитных состояний и играющим немаловажную роль в патогенезе заразных болезней крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводились на базе кафедры инфекционной и незаразной патологии ФГБОУ ВО Уральский ГАУ и на сельскохозяйственных предприятиях Уральского региона в 2014–2022 гг.

Объектом исследования служили: крупный рогатый скот при промышленных технологиях содержания; цельная кровь и сыворотка крови животных, иммунизированных вакциной комбинированной HIPRABOVIS® 4 (Laboratorios Hipra, S. A., Испания), а также разработанный в ФГБОУ ВО Уральский ГАУ растительно-тканевой препарат «Видорол» (патент № RU 2625022 от 14.07.2015), который содержит:

- «Виватон» ветеринарный безаммиачный выветренный (ТУ 112-84-803-3615-001-13) – 10%;
- алоэ экстракт жидкий для инъекций (рег. № ЛП-001319 от 02.12.11) – 6%;
- АСД-2 фракция (ТУ-10-19-73-89) – 4%;
- натрия хлорид 0,9%-й – до 100%.

Серологические исследования сыворотки крови коров и телят проводили в соответствии с «Методическими указаниями по лабораторной диагностике вирусных респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота» [4]. Для серодиагностики использовали: «Набор эритроцитарного диагностикума для серодиагностики респираторно-синцитиальной инфекции (РСИ) КРС в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)», «Набор эритроцитарного диагностикума для серодиагностики инфекционного ринотрахеита КРС в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)», «Набор диагностикумов парагриппа-3 КРС» и «Набор эритроцитарного диагностикума для серодиагностики вирусной диареи КРС в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА)» производства ООО «Агровет» (Россия).

Гематологические исследования проводили по общепринятым методикам. При выполнении общего анализа крови определялось количество эритроцитов, лейкоцитов, гемоглобина [5, 6].

Биохимические показатели крови коров и телят определяли с помощью автоматического биохимического анализатора ChemWell® Combi (Awareness Technology, Inc., США), применяли стандартные наборы реактивов производства ООО «Витал Диагностика СПб» (Россия) согласно рекомендациям производителей. Анализ белковых фракций осуществляли методом электрофореза на агарозном геле с применением диагностических наборов производства Comay Diagnostics (Польша) согласно рекомендациям производителя. Бактерицидную и лизоцимную активность сыворотки крови определяли по модифицированным методикам Е. С. Воронина и соавт. [7].

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

Результаты лабораторных исследований обработаны методами математической статистики, принятыми в биологии и медицине. Достоверность определяли

путем статистической обработки и определения $M \pm m$ с вычислением среднего арифметического (M), среднего квадратического отклонения (δ), ошибки среднего арифметического (m), средней ошибки показателя, выраженного в процентах (mp), с помощью парного t -критерия Стьюдента. Результаты считали достоверными при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рубцовое пищеварение у коров основано на переваривании большого количества клетчатки целлюлозолизитическими бактериями. Для увеличения удоев молока во многих хозяйствах используется концентратный тип кормления, при котором в рационе содержится недостаточное количество углеводов. При концентратном типе кормления амилотическая микрофлора рубца синтезирует из крахмала, содержащегося в зерновых, летучие жирные кислоты, в основном молочную кислоту. При нормальных условиях молочная кислота микрофлорой рубца преобразуется в пропионовую кислоту, из которой в печени синтезируется глюкоза и гликоген. При значительном увеличении в рационах протеинов и недостатке углеводов в рубце образуется большое количество аммиака и синтез пропионовой кислоты угнетается. Кислотность содержимого рубца снижается, развивается ацидоз, что приводит к увеличению количества амилотической и молочнокислой микрофлоры и подавлению роста целлюлозолизитических и пропионовокислых бактерий, увеличению концентрации летучих жирных кислот в крови, развивается метаболический ацидоз [1–3, 8–12]. Кроме того, ацидоз рубца и метаболический ацидоз развиваются

при скармливании коровам преимущественно консервированных кислых кормов, таких как силос и сенаж [8–11, 13–15].

Высокопродуктивные коровы характеризуются интенсивным обменом веществ. При дефиците в рационах нутриентов их недостаток компенсируется использованием для образования эмбрионов и молока веществ из тканей собственного организма, что приводит к снижению иммунобиологического статуса коров даже при незначительных погрешностях в их кормлении и ухудшении условий содержания. В результате чего возникает метаболический иммунодефицит и снижается общая резистентность организма [1–3, 12, 16–20], что способствует инфицированию животных патогенными и условно-патогенными микроорганизмами.

При дефиците в рационах макро- и микроэлементов у животных развиваются хронические гипомикроэлементозы, снижается продуктивность, на фоне нарушения метаболических процессов развиваются вторичные иммунодефициты, что также ведет к снижению резистентности организма. При нарушении обмена кобальта, меди, цинка, кальция замедляется жвачка, пропадает или извращается аппетит, поражаются суставы. При недостаточном количестве в кормах щелочных и щелочноземельных металлов, таких как кальций, натрий, магний и др., и избытке кислых элементов, таких как фосфор, хлор, сера и др., резервная щелочность крови понижается, кислотно-основное равновесие организма коров сдвигается в сторону ацидоза, что ведет к снижению сопротивляемости организма. Дефицит меди, кобальта и цинка приводит к возникновению алиментарных микроэлементозов, способствующих иммуносупрессии и формированию вторичных иммунодефицитов [1–3, 19, 20], что увеличивает восприимчивость животных к инфекционным агентам.

Вместе с тем инфекционные заболевания в некоторых случаях сами могут являться первопричиной метаболических нарушений в организме крупного рогатого скота. Так, основными патологическими факторами, вызываемыми острыми респираторными инфекциями, являются бронхиты, трахеиты и пневмонии. При поражении респираторного тракта в организме животных возникает гипоксия, что приводит к эндогенной интоксикации, приводящей к ацидозу рубца [21–23]. В результате в кровь поступают сосудисто-активные вещества (эндотоксины бактерий, гистамин, молочная кислота) [8, 10, 13, 15, 21], за счет одновременного расширения артериол и сжатия венул повреждается эндотелий сосудов, из кровеносных сосудов в окружающие ткани происходит перфузия жидкости крови, нарушается кровоток в мелких кровеносных сосудах [13, 21].

Важную роль в нарушении кровотока в микроциркуляторном русле играют циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), которые представляют собой комплекс «антиген – антитело». Образование ЦИК – один из факторов нормального иммунного ответа на внедрение инфекционного агента в организм животного. Повышенная концентрация ЦИК, которая возникает при большой антигенной нагрузке на организм или при патологических процессах элиминации ЦИК из организма, из-за их высокой биологической активности приводит к патологическим изменениям в тканях и органах животных. ЦИК обладают как иммуностимулирующими, так и иммуносупрессивными свойствами. Основное патогенное действие ЦИК связано с компонентом

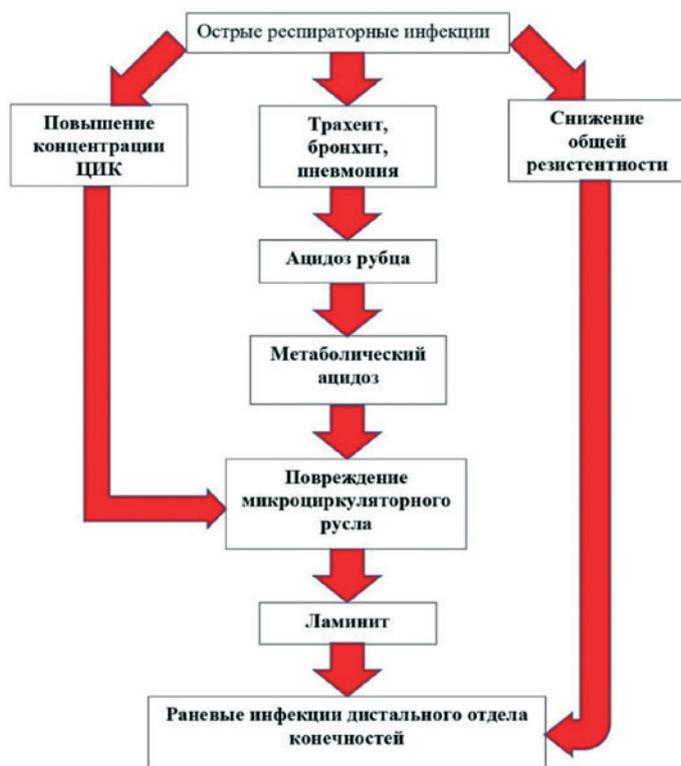


Рис. 1. Влияние острых респираторных заболеваний на патогенез раневых инфекций дистального отдела конечностей крупного рогатого скота

Fig. 1. Effect of acute respiratory diseases on pathogenesis of wound infections of cattle feet

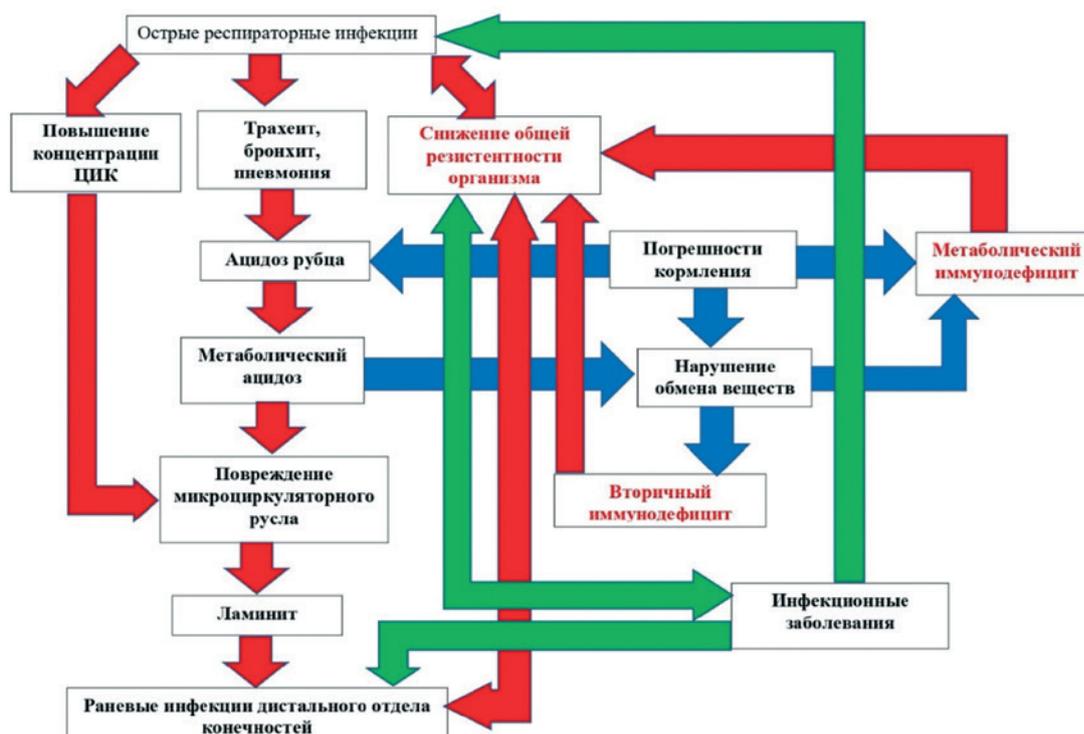


Рис. 2. Влияние метаболических нарушений на патогенез инфекций крупного рогатого скота

Fig. 2. Effect of metabolic disorders on pathogenesis of infections in cattle

и нейтрофилами. Связанные с комплементом ЦИК обладают хемотаксическими свойствами, что приводит к концентрации нейтрофилов в пораженных очагах, из нейтрофилов выходят гидролитические ферменты, которые разрушают ткани организма. Вместе с тем ЦИК могут вызывать патологическое воздействие независимо от наличия комплемента и нейтрофилов [21, 24]. Низкомолекулярные ЦИК накапливаются в различных органах и тканях организма животных, повреждают их и вызывают воспаление. Наиболее часто иммунные комплексы поражают эндотелий кровеносных сосудов, почечные клубочки, суставы, что проявляется клиническими признаками поражения различных, как правило, небольших суставов [21, 25].

У крупного рогатого скота наиболее подвержены поражению мелкие сосуды дистального отдела конечностей, это приводит к нарушению снабжения кожи конечностей и копыт питательными веществами, развивается ламинит, при этом копытный рог слабо кератинизирован и не может противостоять агрессивным механическим и химическим факторам внешней среды [13, 15]. Поврежденные копыта являются воротами инфекции для проникновения возбудителей некробактериоза *Fusobacterium necrophorum*, стафилококкоза *Staphylococcus* spp., стрептококкоза *Streptococcus* spp. и других патогенов [13, 15, 21, 23, 26]. Кроме того, благоприятные условия для развития микст-инфекции создаются за счет снижения общей резистентности организма, что отмечается как при респираторной патологии [2, 3, 27], так и при патологии дистального отдела конечностей [26]. Схема влияния острых респираторных вирусных инфекций на патогенез раневых инфекций дистальных отделов конечностей крупного рогатого скота представлена на рисунке 1.

Нарушение обмена веществ у стельных коров приводит к рождению ослабленного потомства, у телят от-

мечаются дистрофия печени, почек, селезенки и лимфатических узлов [1, 9, 13], они более восприимчивы к инфекциям.

У высокопродуктивных коров нарушения обмена веществ регистрируются круглогодично, при этом пик приходится на первые месяцы после отела [1–3].

Схема влияния метаболических нарушений на патогенез инфекций крупного рогатого скота представлена на рисунке 2.

Нарушение метаболизма и возникающие на его фоне иммунодефициты у коров являются немаловажными факторами низкой эффективности вакцинации для профилактики инфекций крупного рогатого скота [1–3] из-за недостаточного ответа иммунной системы животного на введение вакцин.

С целью профилактики иммунодефицитных состояний крупного рогатого скота различного генеза в ФГБОУ ВО Уральский ГАУ разработан иммунометаболический растительно-тканевой препарат «Видорал» [28].

Исследовали влияние препарата «Видорал» на гематологические и биохимические показатели крови дойных коров второй лактации ($n = 5$), у которых отмечалась незначительная анемия, эритроцитопения, лейкоцитоз, лимфоцитоз и моноцитоз, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) была выше нормы, что является свидетельством наличия воспалительных процессов в организме животных. Препарат вводили коровам однократно подкожно в дозе 0,025 мл/кг живой массы и через 14 дней производили отбор крови для проведения исследований. Результаты представлены в таблицах 1 и 2.

Увеличение содержания гемоглобина в крови коров через 14 дней после введения растительно-тканевого препарата «Видорал» на 5,7% и количества эритроцитов на 22,2% до уровня физиологической нормы

Таблица 1
Изменение гематологических показателей крови коров при применении «Видорала»

Table 1
Changes in hematological parameters of cow blood after using “Vidorol”

Показатель	Норма	До введения препарата	Через 14 дней после введения препарата
Гемоглобин, г/л	99–129	94,30 ± 0,83	99,66 ± 0,48*
СО ₂ , мм/ч	0,5–1,5	2,82 ± 0,26	0,83 ± 0,26
Эритроциты, млн/мм	5,0–7,5	4,28 ± 0,13	5,23 ± 0,15*
Лейкоциты, тыс/мм	4,6–12,0	14,02 ± 0,24	11,05 ± 1,22
Базофилы, %	0–2	3,33 ± 0,02	2,07 ± 0,38
Эозинофилы, %	3–8	9,42 ± 0,16	7,34 ± 1,32
Нейтрофилы, %	20–35	46,26 ± 0,31	39,62 ± 1,39
Незрелые нейтрофилы, %	0–1	1,14 ± 0,20	0,47 ± 0,25
Палочкоядерные нейтрофилы, %	2–5	6,18 ± 0,16	5,05 ± 0,45
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20–35	37,04 ± 0,36	35,46 ± 0,54
Лимфоциты, %	40–75	82,14 ± 0,63	76,36 ± 1,46
Моноциты, %	2–7	8,74 ± 0,16	7,33 ± 0,26

* данные достоверны: $P \leq 0,05$ (data are reliable: $P \leq 0,05$).

Таблица 2
Изменение биохимических показателей крови коров при применении «Видорала»

Table 2
Changes in biochemical parameters of cow blood after using “Vidorol”

Показатель	Норма	До введения препарата	Через 14 дней после введения препарата
ЛАСК, %		11,18 ± 0,26	23,43 ± 2,73*
БАСК, %		6,70 ± 0,16	42,50 ± 2,24*
Альбумины, г/л	25–35	24,42 ± 0,11	24,67 ± 1,72
α -глобулины, г/л	12–20	8,65 ± 0,26	13,21 ± 1,90
β -глобулины, г/л	10–16	9,98 ± 0,31	10,70 ± 0,38
γ -глобулины, г/л	25–40	23,20 ± 0,32	24,96 ± 0,25*
Белок, г%	6,8–9,0	12,40 ± 0,49	37,10 ± 13,23
АсТ, нкат/л	80–120	41,60 ± 0,76	44,92 ± 0,22*
АлТ, нкат/л		31,80 ± 0,74	13,06 ± 6,11
Мочевина, ммоль/л	3,6–9,0	4,74 ± 0,14	4,72 ± 0,12
Глюкоза, ммоль/л	3,11–4,89	2,34 ± 0,01	2,37 ± 0,01
Билирубин, мкмоль/л	0–12	5,29 ± 0,02	5,18 ± 0,08
Общие липиды, г/л		3,51 ± 0,03	3,53 ± 0,04
Каротин, мкмоль/л	0,5–2,0	0,07 ± 0,01	0,52 ± 0,08*
Кальций, ммоль/л	2,0–3,0	2,73 ± 0,02	2,77 ± 0,02
Фосфор, ммоль/л	1,29–2,77	1,05 ± 0,02	1,08 ± 0,02
Щелочная фосфатаза, ед/л	28–233	251,54 ± 2,78	248,44 ± 5,02
Холинэстераза, Ед/л		519,76 ± 1,41	520,32 ± 1,16
Амилаза, Ед/л	0–34	17,32 ± 0,65	18,21 ± 0,52*
Гамма-ГТ, Ед/л		21,44 ± 0,43	21,62 ± 0,16
Альфа-ГБДГ, Ед/л		533,08 ± 1,25	524,37 ± 6,57
ЛДГ, ммоль/л		939,74 ± 5,48	896,49 ± 27,32

* данные достоверны: $P \leq 0,05$ (data are reliable: $P \leq 0,05$).

свидетельствует о стимуляции гемопоэза, а снижение скорости оседания эритроцитов в 3,4 раза до референсных значений говорит о нормализации обменных процессов и снижении воспалительных реакций в организме животных. Количество лейкоцитов в крови коров уменьшилось на 21,2% до показателей физиологической нормы, что указывает на противовоспалительное действие «Видорала», количество базофилов снизилось на 37,8%, а эозинофилов – на 22%, что является следствием уменьшения аллергических реакций в организме животных, вызываемых аллергенами различного генеза. Кроме того, на противовоспалительные свойства изучаемого препарата указывает снижение на 14,4% количества нейтрофилов, на 58,8% – незрелых нейтрофилов, на 18,3% – палочкоядерных нейтрофилов, на 4,3% – сегментоядерных нейтрофилов, на 7% – лимфоцитов, на 16,1% – моноцитов.

Установлено, что лизоцимная активность сыворотки крови (ЛАСК) коров увеличилась в 2,1 раза, бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК) – в 6,3 раза, что является следствием повышения общей резистентности организма коров. Концентрация в сыворотке крови коров α -глобулинов выросла на 52,7%, что указывает на нормализацию работы поджелудочной железы. Концентрация β -глобулинов увеличилась на 7,2%, γ -глобулинов – на 7,6%, белка – в 3 раза, что свидетельствует о нормализации белкового обмена в организме коров. Под действием «Видорала» в 7,4 раза выросла концентрация каротина, что говорит о повышении общей резистентности организма животных. Снижение концентрации в сыворотке крови коров лактатдегидрогеназы (ЛДГ) на 4,6% указывает на нормализацию функций печени, почек, поджелудочной железы.

Влияние растительно-тканевого препарата «Видорал» на сероконверсию при применении комбинированной вакцины HIPRABOVIS® 4 против инфекционной ринотрахеита (ИРТ), парагриппа-3 (ПГ-3), вирусной диареи (ВД), респираторно-синциальной инфекции (РСИ) крупного рогатого скота исследовали на коровах второй лактации за 2 месяца до предполагаемого отела. Для этого были сформированы четыре группы коров по 10 гол. в каждой: две – с низким фоновым уровнем антител к вирусам ПГ-3, ИРТ, ВД, РСИ (опытная группа № 1 и контрольная группа № 1) и две – с высоким фоновым уровнем антител к вирусу РСИ (опытная группа № 2 и контрольная группа № 2). Животные всех групп двукратно с интервалом в 14 дней были иммунизированы вакциной HIPRABOVIS® 4. Коровам опытных групп № 1 и 2 в дни вакцинаций подкожно в дозе 0,025 мл/кг живой массы вводился «Видорал», животным контрольных групп № 1 и 2 препарат не вводился. Результаты представлены в таблице 3.

У коров в группах с низким фоновым уровнем антител к вирусу РСИ (опытная № 1 и контрольная № 1 группы) отмечались высокие фоновые уровни титров антител к возбудителям ПГ-3, ИРТ, и наоборот.

При применении растительно-тканевого препарата «Видорал» в опытных группах № 1 и 2 за 10–14 дней до отела содержание специфических антител к вирусу ПГ-3 увеличилось на 1,2 и 2,7 \log_2 соответственно. В опытной группе № 1 и контрольной группе № 1 (с высокими фоновыми уровнями антител к вирусу ПГ-3) за 10–14 дней до отела титры антител к вирусу ПГ-3 находились на одном уровне, в то время как у животных с низким фоновым уровнем антител к возбудителю ПГ-3

в опытной группе № 2 титр был на 0,62 log₂ выше, чем в контрольной группе № 2, и на 1,0 log₂ выше, чем в опытной группе № 1 и контрольной группе № 1.

Количество антител к вирусу ИРТ в сыворотке крови коров опытных групп № 1 и 2 увеличилось на 1,5 и 1,3 log₂ соответственно. В группах с высокими фоновыми уровнями антител к возбудителю ИРТ (опытная группа № 1 и контрольная группа № 1) за 10–14 дней до отела титры антител были идентичны, в то время как их уровень в опытной группе № 2 был выше, чем в контрольной группе № 2 на 0,12 log₂.

За 10–14 дней до отела при применении животным растительно-тканевого препарата «Видорал» в опытных группах № 1 и 2 уровень антител к вирусу ВД увеличился на 3,5 и 1,4 log₂ соответственно, количество антител в опытной группе № 1 и контрольной группе № 1 отмечалось на одном уровне, вместе с тем титры антител в опытной группе № 2 были выше, чем в контрольной группе № 2 на 0,72 log₂.

При использовании «Видорала» в качестве иммуно-метаболического препарата за 10–14 дней до отела в опытных группах № 1 и 2 титры антител к вирусу РСИ увеличились на 4,2 и 2,6 log₂, в то время как в контрольных группах № 1 и 2 – только на 2,6 и 2,0 log₂ соответственно. У животных с низким фоновым уровнем антител к возбудителю РСИ в опытной группе № 1 титр антител был на 1,6 log₂ выше, чем в контрольной группе № 1. В опытной группе № 2 с высоким фоновым содержанием антител к вирусу РСИ титр антител на 1,2 log₂ превышал таковой контрольной группы № 2.

Таким образом, применение растительно-тканевого препарата «Видорал» совместно с вакциной HIPRABOVIS® 4 стимулирует у глубокостельных коров сероконверсию к возбудителям ПГ-3, ИРТ, ВД и РСИ, в целом титры антител к данным инфекционным агентам в обеих опытных группах были выше уровня антител в соответствующих контрольных группах.

Следующим этапом исследования было изучение влияния препарата «Видорал» на гематологические и биохимические показатели крови 30-суточных телят, у которых выявили незначительную анемию, эритроцитопению и лейкоцитоз, повышенный уровень СОЭ, что указывает на воспалительные процессы в организме животных.

Растительно-тканевой препарат «Видорал» вводился телятам ($n = 5$) однократно подкожно в дозе 0,025 мл/кг живой массы. До применения изучаемого средства, а также через 14 дней после у телят отбирали кровь для проведения исследований. Результаты представлены в таблицах 4 и 5.

Установлено, что через 14 дней после введения «Видорала» концентрация гемоглобина в крови телят увеличилась на 2,5%, уровень эритроцитов поднялся до физиологической нормы (на 15,5%), что указывает на стимуляцию гемопоэза и эритропоэза.

О нормализации обменных процессов и уменьшении воспалительных реакций в организме телят свидетельствует снижение в 2,2 раза (до показателей физиологической нормы) скорости оседания эритроцитов, на 7,4% – количества лейкоцитов, на 27% – количества базофилов, на 2,9% – количества нейтрофилов, на 41,7% – незрелых нейтрофилов, на 7,4% – палочкоядерных нейтрофилов, на 2,9% – сегментоядерных нейтрофилов и увеличение на 5,7% количества моноцитов. Количество эозинофилов уменьшилось на 11,5%, что

Таблица 3

Влияние растительно-тканевого препарата «Видорал» на сероконверсию к вирусам ПГ-3, ИРТ, ВД, РСИ у глубокостельных коров

Table 3

Effect of plant tissue product “Vidoral” on seroconversion to PI-3, IBR, BVD and RS viruses in cows in late gestation

Группа	Титры антител, log ₂			
	фон	через 14 дней	через 28 дней	за 10–14 дней до отела
ПГ-3				
Опытная группа № 1	8,72	8,66	9,65	9,94*
Контрольная группа № 1	8,68	8,64	9,65	9,94
Опытная группа № 2	8,28	9,56	10,86	10,94*
Контрольная группа № 2	8,27	8,714	9,32	10,32
ИРТ				
Опытная группа № 1	8,77	9,42	9,90	10,27*
Контрольная группа № 1	8,37	9,41	9,89	10,27
Опытная группа № 2	6,95	7,53	8,21	8,25*
Контрольная группа № 2	6,91	7,13	7,78	8,13
ВД				
Опытная группа № 1	6,93	8,83	10,24	10,44*
Контрольная группа № 1	6,91	8,82	10,24	10,44
Опытная группа № 2	7,06	7,68	8,29	8,50*
Контрольная группа № 2	6,91	7,49	7,71	7,78
РСИ				
Опытная группа № 1	4,32	6,02	7,02	8,49*
Контрольная группа № 1	4,32	5,32	6,32	6,91
Опытная группа № 2	5,91	6,49	7,91	8,49*
Контрольная группа № 2	5,32	5,91	6,91	7,32

* данные достоверны: $P \leq 0,05$ (data are reliable: $P \leq 0,05$).

указывает на снижение проявления в организме телят аллергических реакций различного генеза.

Через 14 дней после применения растительно-тканевого препарата «Видорал» лизоцимная активность сыворотки крови (ЛАСК) телят увеличилась в 1,3 раза, бактерицидная активность сыворотки крови (БАСК) – в 1,15 раза, количество каротина – в 2,3 раза, что говорит о повышении сопротивляемости организма. О нормализации белкового обмена свидетельствует рост в сыворотке крови телят содержания альбуминов на 4,4%, α -глобулинов – на 3,6%, β -глобулинов – на 10,4%, γ -глобулинов – на 4,7% и концентрации белка – на 8% (в пределах физиологической нормы). На гепатопротективное действие испытуемого препарата указывает повышение концентрации аспартатаминотрансферазы на 2,2%, аланинаминотрансферазы – на 10%, мочевины – на 10%, билирубина – в 2 раза. Признаком нормализации метаболизма жиров является увеличение на 14% содержания общих липидов. Повышение в сыворотке крови телят содержания кальция на 25,4% и фосфора на 26,8% свидетельствует о нормализации минерального обмена.

Влияние растительно-тканевого препарата «Видорал» на сероконверсию при применении вакцины HIPRABOVIS® 4 исследовали на 20–25-суточных телятах.

Таблица 4
Изменение гематологических показателей крови телят при применении «Видорала»

Table 4
Changes in hematological parameters of calf blood after using “Vidoral”

Показатель	Норма	До введения препарата	Через 14 дней после введения
Гемоглобин, г/л	99–129	96,98 ± 0,88	99,44 ± 0,21*
СОЭ, мм/ч	0,5–1,5	2,74 ± 0,19	1,24 ± 0,26
Эритроциты, млн/мм	5,0–7,5	4,38 ± 0,15	5,06 ± 0,24*
Лейкоциты, тыс./мм	4,6–12,0	14,260 ± 0,362	13,20 ± 0,35
Базофилы, %	0–2	3,04 ± 0,25	2,22 ± 0,07
Эозинофилы, %	3–8	10,48 ± 0,64	9,28 ± 0,42
Нейтрофилы, %	20–35	40,22 ± 0,91	39,04 ± 1,06
Незрелые нейтрофилы, %	0–1	0,72 ± 0,07	0,42 ± 0,10
Палочкоядерные нейтрофилы, %	2–5	5,64 ± 0,16	5,22 ± 0,10
Сегментоядерные нейтрофилы, %	20–35	36,92 ± 0,30	35,86 ± 0,36
Лимфоциты, %	40–75	78,06 ± 0,61	77,28 ± 0,68
Моноциты, %	2–7	5,62 ± 0,71	5,94 ± 0,53

* данные достоверны: $P \leq 0,05$ (data are reliable: $P \leq 0,05$).

Таблица 5
Изменение биохимических показателей сыворотки крови телят при применении «Видорала»

Table 5
Changes in biochemical parameters of calf blood after using “Vidoral”

Показатель	Норма	До введения препарата	Через 14 дней после введения
ЛАСК, %		15,28 ± 0,25	19,82 ± 0,81*
БАСК, %		29,62 ± 0,12	34,06 ± 0,34*
Альбумины, г/л	25–35	16,38 ± 0,51	17,10 ± 0,63
α-глобулины, г/л	12–20	16,20 ± 0,34	16,78 ± 0,31
β-глобулины, г/л	10–16	8,50 ± 0,14	9,38 ± 0,22
γ-глобулины, г/л	25–40	23,70 ± 0,17	24,82 ± 0,06*
Белок, г%	56–78	57,28 ± 1,29	61,90 ± 1,51
АСТ, нкат/л	80–120	43,56 ± 0,70	44,50 ± 0,56*
АЛТ, нкат/л	8–37	5,46 ± 0,16	6,00 ± 0,10*
Мочевина, ммоль/л	3,6–9,0	2,50 ± 0,14	2,76 ± 0,05
Глюкоза, ммоль/л	3,11–4,89	1,50 ± 0,15	1,62 ± 0,18
Билирубин, мкмоль/л	0–12	0,30 ± 0,03	0,61 ± 0,19
Общие липиды, г/л		2,34 ± 0,02	2,67 ± 0,11*
Каротин, мкмоль/л	0,5–2,0	0,34 ± 0,02	0,78 ± 0,20
Кальций, ммоль/л	2,0–3,0	1,26 ± 0,01	1,58 ± 0,09*
Фосфор, ммоль/л	1,29–2,77	0,67 ± 0,01	0,85 ± 0,05*
Щелочная фосфатаза, ед/л	28–233	265,89 ± 16,08	268,36 ± 15,69
Холинэстераза, Ед/л		447,06 ± 14,03	453,62 ± 8,60
Амилаза, Ед/л	0–34	26,76 ± 1,08	27,46 ± 0,91
Гамма-ГТ, Ед/л	5–36	15,14 ± 0,47	15,88 ± 0,26*
Альфа-ГБДГ, Ед/л		308,56 ± 3,16	309,66 ± 2,63
ЛДГ, ммоль/л	300–800	529,36 ± 1,51	533,50 ± 1,54

* данные достоверны: $P \leq 0,05$ (data are reliable: $P \leq 0,05$).

Для этого были сформированы четыре группы телят: опытная группа № 1 ($n = 10$) и контрольная группа № 1 ($n = 10$) состояли из нормотрофиков, опытная группа № 2 ($n = 7$) и контрольная группа № 2 ($n = 10$) – из гипотрофиков. Телятам опытной группы № 1 «Видорал» вводился двукратно (за 5 дней до вакцинации и в день вакцинации) подкожно в дозе 0,025 мл/кг живой массы, опытной группы № 2 – трехкратно (за 10, 5 дней до вакцинации и в день вакцинации) в той же дозе. Телятам контрольных групп № 1 и 2 препарат не вводился. Титры антител к вирусам ИРТ, ВД, ПГ-3 и РСИ у телят всех групп определялись через 7, 14 и 28 дней. Результаты представлены в таблице 6.

Установлено, что при применении растительно-тканевого препарата «Видорал» через 28 дней после вакцинации в опытной группе № 1 титры антител к вирусу ПГ-3 увеличились на 2,85 \log_2 , в контрольной группе № 1 – на 2,64 \log_2 , в опытной группе № 2 – на 3,33 \log_2 , в контрольной группе № 2 – на 2,63 \log_2 ; титры антител к возбудителю ИРТ в опытной группе № 1 повысились на 2,61 \log_2 , в контрольной группе № 1 – на 2,29 \log_2 , в опытной группе № 2 – на 2,51 \log_2 , в контрольной группе № 2 – на 2,06 \log_2 ; титры антител к вирусу ВД в опытной группе № 1 увеличились на 1,42 \log_2 , в кон-

Таблица 6
Влияние растительно-тканевого препарата «Видорал» на сероконверсию к вирусам ИРТ, ВД, ПГ-3, РСИ у телят

Table 6
Effect of plant tissue product “Vidoral” on seroconversion to IBR, BVD, PI-3 and RS viruses in calves

Группа	Титры антител, \log_2			
	фон	через 7 дней	через 14 дней	через 28 дней
ПГ-3				
Опытная группа № 1	8,82	10,04	11,06	11,67*
Контрольная группа № 1		9,83	10,87	11,46
Опытная группа № 2	8,63	10,33	11,31	11,96*
Контрольная группа № 2		9,95	10,71	11,26
ИРТ				
Опытная группа № 1	8,34	8,82	9,72	10,95*
Контрольная группа № 1		8,59	9,06	10,63
Опытная группа № 2	8,21	8,93	9,55	10,72*
Контрольная группа № 2		8,82	9,42	10,27
ВД				
Опытная группа № 1	7,25	7,61	8,17	8,67*
Контрольная группа № 1		7,40	7,56	8,28
Опытная группа № 2	7,16	8,06	8,55	9,41*
Контрольная группа № 2		7,51	7,85	9,17
РСИ				
Опытная группа № 1	5,32	6,32	7,37	8,32*
Контрольная группа № 1		5,64	6,32	6,41
Опытная группа № 2	5,39	6,13	7,32	7,78*
Контрольная группа № 2		5,49	5,91	6,13

* данные достоверны: $P \leq 0,05$ (data are reliable: $P \leq 0,05$).

трольной группе № 1 – на $1,03 \log_2$, в опытной группе № 2 – на $2,25 \log_2$, в контрольной группе № 2 – на $2,01 \log_2$; титры антител к возбудителю РСИ в опытной группе № 1 повысились на $3,0 \log_2$, в контрольной группе № 1 – на $1,09 \log_2$, в опытной группе № 2 – на $2,39 \log_2$, в контрольной группе № 2 – на $0,74 \log_2$.

Таким образом, применение иммунометаболического растительно-тканевого препарата «Видорал» совместно с вакциной HIPRAVOVIS® 4 стимулирует у телят сероконверсию к вирусам ПГ-3, ИРТ, ВД и РСИ, в целом титры антител к данным инфекционным агентам в обеих опытных группах были выше уровня аналогичных антител в соответствующих контрольных группах.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что применение растительно-тканевого препарата «Видорал» в сочетании с вакцинацией глубококостельных коров и телят против острых респираторных вирусных инфекций обеспечивает выраженную стимуляцию иммунометаболических процессов, что является необходимым фоном для сероконверсии к вирусам ПГ-3, ИРТ, ВД, РСИ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показали исследования, несбалансированное кормление крупного рогатого скота, недостаток в рационах макро- и микроэлементов, а также некоторые острые инфекционные заболевания (например, острые респираторные) провоцируют нарушение обмена веществ в организме животных, что приводит к снижению общей резистентности и иммунодефицитным состояниям, повышению восприимчивости к инфекционным патогенам и, как следствие, развитию инфекций, в том числе микст-инфекций.

Разработанный иммунометаболический растительно-тканевой препарат «Видорал» нормализует обменные процессы в организме коров и телят, увеличивает гемопоэз, снижает воспаление и стимулирует выработку специфических антител к вирусам ПГ-3, ИРТ, ВД и РСИ при иммунизации вакциной HIPRAVOVIS® 4.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Мищенко В. А., Мищенко А. В., Яшин Р. В., Евграфова В. А., Никешина Т. Б. Метаболические заболевания крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (3): 184–189. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-184-189.
- Мищенко В. А., Мищенко А. В., Яшин Р. В., Гладилин Г. В. Проблемы вакцинопрофилактики животных: известное и неизвестное. *Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов: сборник докладов Международной научно-практической конференции (8–9 сентября 2020 г.)*. Курск: ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр»; 2020; 203–208. eLIBRARY ID: 44126973.
- Мищенко В. А., Мищенко А. В., Гладилин Г. В. Метаболический иммунодефицит у высокопродуктивного крупного рогатого скота. *Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов: сборник докладов Международной научно-практической конференции (11–13 сентября 2019 г.)*. Курск: ФГБНУ «Курский федеральный аграрный научный центр»; 2019; 614–618. eLIBRARY ID: 41322018.
- Методические указания по лабораторной диагностике вирусных респираторно-кишечных инфекций крупного рогатого скота: утв. ГВУ МСХ СССР 25.07.1978.
- Симонян С. Г., Хисамутдинов Ф. Ф. Ветеринарная гематология. М.: Колос; 1995. 256 с.
- Федосеева Н. Влияние возраста первого отела на молочную продуктивность коров. *Молочное и мясное скотоводство*. 1999; 6: 9–11.
- Воронин Е. С., Петров А. М., Серых М. М., Девришов Д. А. Иммунология. М.: Колос-Пресс; 2002. 408 с.
- Евглевский Ал. А., Скира В. Н., Евглевская Е. П., Ванина Н. В., Михайлова И. И., Сулейманова Т. А., Переверзева Ю. А. Метаболический

ацидоз у высокопродуктивных коров: причины, последствия, профилактика. *Ветеринария*. 2017; 5: 45–48. eLIBRARY ID: 29155246.

9. Евглевский Ал. А., Швец О. М., Евглевская Е. П., Ерыженская Н. Ф., Сулейманова Т. А., Гапеев Н. В., Переверзева Ю. А. Метаболический кетоацидоз высокопродуктивных лактирующих коров: причины, последствия и перспективные подходы решения. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2018; 2: 26–29. eLIBRARY ID: 32777926.

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

11. Конвай В. Д., Заболотных М. В. Метаболические нарушения высокопродуктивных коров. *Вестник Омского ГАУ*. 2017; 3 (27): 130–136. eLIBRARY ID: 30467978.

12. Жуков И. В., Ушкова А. А. Анализ биохимического состояния крупного рогатого скота импортной селекции. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*. 2014; (4): 118–121. DOI: 10.20914/2310-1202-2014-4-118-121.

13. Балаш А., Батиз Г., Бридл Е., Чаки Т., Гомбш III, Кюртфалви А. Содержание, кормление и важнейшие ветеринарные вопросы при разведении голштино-фризской породы скота. Под ред. Е. Бридл; пер. с венг. Я. Захар. Будапешт: Agrota; 1994. 238 с.

14. Самоловов А. А., Лопатин С. В. Хромота – отражение системных метаболических болезней молочного скота. *Инновации и продовольственная безопасность*. 2013; (2): 76–80. eLIBRARY ID: 21834680.

15. Мельник Н. В., Самуйленко А. Я., Мельник Р. Н., Гринь С. А., Ключкина В. И., Никитина А. И. и др. Некробактериоз животных. Лечение и профилактика. Под ред. А. Я. Самуйленко. Краснодар: КубГАУ; 2018. 279 с. eLIBRARY ID: 36686875.

16. Кочнев Н. Н. Влияние технологических факторов на биохимический статус молочных коров. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2012; (2): 39–45. eLIBRARY ID: 17729501.

17. Турнаев С. Н., Евглевский Ал. А. Причины выбытия высокопродуктивных коров на молочных комплексах Курской области: состояние, проблемы, пути решения. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2014; 9: 67–69. eLIBRARY ID: 22978642.

18. Евглевский Ал. А., Турнаев С. Н., Тарасов В. Ю., Лебедев А. Ф., Швец О. М., Евглевская Е. П. Проблемы обеспечения здоровья высокопродуктивных коров в промышленном животноводстве и практические пути ее решения. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2017; 4: 26–30. eLIBRARY ID: 36738657.

19. Петрянкин Ф. П., Лаврентьев А. Ю., Шерне В. С. Влияние кормления на иммунный статус организма животных (научный обзор). *Вестник Чувашской ГСХА*. 2017; 2: 46–50. eLIBRARY ID: 30743338.

20. Петрянкин Ф. П. Состояние иммунного статуса организма от кормления животных. *Пути реализации Федеральной научно-технической программы развития сельского хозяйства на 2017–2025 годы: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию Курганской области (19–20 апреля 2018 г.)*. Курган: Курганская ГСХА; 2018; 613–617. eLIBRARY ID: 34910716.

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

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

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

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

25. Мейл Д., Бростофф Дж., Рот Д. Б., Ройт А. Иммунология. Пер. с англ. М.: Логосфера; 2007. 586 с.

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

27. Шкуратова И. А., Шилова Е. Н., Соколова О. В., Ряпосова М. В. Программы контроля инфекционных факторов, влияющих на репродуктивную функцию высокопродуктивных молочных коров. *Ветеринария и кормление*. 2020; 2: 54–57. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-2-13.

28. Алексеев А. Д. Усовершенствование системы профилактики респираторно-синцитиальной инфекции крупного рогатого скота и обновление иммунокоррекции: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Екатеринбург; 2016. 22 с. eLIBRARY ID: 30436176.

REFERENCES

- Mishchenko V. A., Mishchenko A. V., Yashin R. V., Evgrafova V. A., Nikeshina T. B. Metabolic diseases of cattle. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 184–189. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-184-189.
- Mishchenko V. A., Mishchenko A. V., Yashin R. V., Gladilin G. V. Problemy vaktsinoproflaktiki zhivotnykh: izvestnoe i neizvestnoe = Challenges of animal vaccination: known and unknown facts. *Problems and prospects of scientific-innovative support of the agro-industrial complex of regions: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference, Kursk, September 8–9, 2020*. Kursk: FSBSI "Kursk Federal Agricultural Research Center"; 2020; 203–208. eLIBRARY ID: 44126973. (in Russ.)
- Mishchenko V. A., Mishchenko A. V., Gladilin G. V. Metabolicheskie immunodefitsity u vysokoproduktivnogo krupnogo rogatogo skota = Metabolic immunodeficiency in highly productive cattle. *Problems and prospects of scientific-innovative support of the agro-industrial complex of regions: Proceedings of the International Scientific Conference, Kursk, September 11–13, 2019*. Kursk: FSBSI "Kursk Federal Agricultural Research Center"; 2019; 614–618. eLIBRARY ID: 41322018. (in Russ.)
- Guidelines for laboratory diagnosis of viral bovine respiratory and enteral infections: approved by CVD of USSR MoA on 25.07.1978. (in Russ.)
- Simonyan S. G., Khisamutdinov F. F. *Veterinary gematology*. Moscow: Kolos; 1995. 256 p. (in Russ.)
- Fedoseeva N. Vliyaniye vozrasta pervogo otela na molochnyuyu produktivnost' korov = Influence of the age of the first calving on the milk productivity of cows. *Dairy and Beef Cattle Farming*. 1999; 6: 9–11. (in Russ.)
- Voronin E. S., Petrov A. M., Serykh M. M., Devrishov D. A. *Immunology*. Moscow: Kolos-Press; 2002. 408 p. (in Russ.)
- Evglevskiy A. A., Skhira V. N., Evglevskaya E. P., Vanina N. V., Mikhailova I. I., Suleimanova T. A., Pereverzeva J. A. Metabolic acidosis of high-yielding cows: causes, consequences, prophylaxes. *Veterinariya*. 2017; 5: 45–48. eLIBRARY ID: 29155246. (in Russ.)
- Evglevskiy A. A., Shvets O. M., Evglevskaya E. P., Eryzhenskaya N. F., Suleimanova T. A., Gapeev N. V., Pereverzeva Yu. A. Metabolic ketoacidosis in high-yielding lactating cows: causes, consequences and promising approaches for the solution. *Vestnik Kurskoj gosudarstvennoj sel'skoho-zyajstvennoj akademii*. 2018; 2: 26–29. eLIBRARY ID: 32777926. (in Russ.)
- Evglevskiy A. A., Evglevskaya E. P., Mikhaylova I. I., Vanina N. V., Eryzhenskaya N. F., Suleimanova T. A. Disturbance of acid-base balance in the cow: causes, consequences and treatment. *Veterinary pathology*. 2017; 1: 53–58. eLIBRARY ID: 29737143. (in Russ.)
- Konvai V. D., Zabolotnykh M. V. Metabolic disorders of high yielding cows. *Vestnik of Omsk SAU*. 2017; 3 (27): 130–136. eLIBRARY ID: 30467978. (in Russ.)
- Zhukov I. V., Ushkova A. A. Analysis of biochemical status of cattle imported breeding. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*. 2014; (4): 118–121. DOI: 10.20914/2310-1202-2014-4-118-121. (in Russ.)
- Balash A., Batiz G., Bridl E., Chaki T., Gombosh III, Kyurftalvi A. Maintenance, feeding and the most important veterinary issues in the breeding of the Holstein-Friesian cattle breed. Ed. by E. Bridle; translated by Ya. Zakhar. Budapest: Agrotia; 1994. 238 p. (in Russ.)
- Samolovov A. A., Lopatin S. V. Lameness – reflection of systemic metabolic diseases of the dairy cattle. *Innovations and Food Safety*. 2013; (2): 76–80. eLIBRARY ID: 218346800. (in Russ.)
- Melnik N. V., Samuylenko A. Ya., Melnik R. N., Grin S. A., Klyukina V. I., Nikitina A. I., et al. Foot rot in animals. Treatment and prevention. Ed. by A. Ya. Samuylenko. Krasnodar: KubSAU; 2018. 279 p. eLIBRARY ID: 36686875. (in Russ.)
- Kochnev N. N. Influence of technological factors on biochemical status in dairy cows. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2012; (2): 39–45. eLIBRARY ID: 17729501. (in Russ.)
- Turnaev S. N., Evglevskiy A. A. The reasons for the disposal of highly productive cows on dairy complexes Kursk region: status, problems, solutions. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2014; 9: 67–69. eLIBRARY ID: 22978642. (in Russ.)
- Evglevskiy A. A., Turnaev S. N., Tarasov V. Yu., Lebedev A. F., Shvets O. M., Evglevskaya E. P. Problems of health support for highly productive cows in industrial livestock and practical ways of their solutions. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2017; 4: 26–30. eLIBRARY ID: 36738657. (in Russ.)
- Petryankin F. P., Lavrentiev A. Yu., Sherne V. S. Impact of feeding on immune status of animals organism (scientific review). *Vestnik Chuvash SAA*. 2017; 2: 46–50. eLIBRARY ID: 30743338. (in Russ.)
- Petryankin F. P. Immune status of the organism from feeding of animals. *Puti realizatsii Federal'noi nauchno-tehnicheskoi programmy razvitiya sel'skogo khozyaistva na 2017–2025 gody: materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 75-letiyu Kurganskoi oblasti (19–20 aprelya 2018 g.) = Ways of implementation of Federal scientific and technical program of agricultural development for 2017–2025: Proceedings of International Scientific and Practical Conference devoted to 75th anniversary of the Kurgan Oblast (April 19–20, 2018)*. Kurgan: Kurgan SAA; 2018; 613–617. eLIBRARY ID: 34910716. (in Russ.)
- Alekseev A. D., Petrova O. G., Barashkin M. I., Milstein I. M., Moskvina V. D. Role of acute respiratory diseases in pathogenesis of distal limb infections in cattle. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 190–196. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-190-196.
- Alekhin Yu. N., Zhukov M. S., Lebedeva A. Yu. Functional state of proventriculi at different stages of bronchopneumonia development and during post-treatment period in calves. *Veterinary Medicine, Zootechnics and Biotechnology*. 2016; 11: 13–19. eLIBRARY ID: 27257704. (in Russ.)
- Zolotarev A. I., Chernitskiy A. E., Retskiy M. I. Acid-base status and blood gas composition in calves with bronchitis. *Veterinariya*. 2013; 7: 47–52. eLIBRARY ID: 19403634. (in Russ.)
- Mager S. N., Dement'yeva E. S. *Physiology of the immune system*. Saint Petersburg: Lan; 2014. 192 p. (in Russ.)
- Male D., Brostoff J., Roth D. B., Roitt I. M. *Immunology*. Elsevier Ltd.; 2006. 7th ed. 482 p.
- Barashkin M. I., Petrova O. G. Features of the epizootiology of infectious diseases of the distal extremities of cattle in industrial technology of content. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2016; 3 (145): 27–31. eLIBRARY ID: 25797139. (in Russ.)
- Shkuratova I. A., Shilova E. N., Sokolova O. V., Ryaposova M. V. Programs for controlling infectious factors affecting the reproductive function of highly productive dairy cows. *Veterinaria i kormlenie*. 2020; 2: 54–57. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-2-13. (in Russ.)
- Alekseev A. D. Improvement of prevention design of infection with respiratory syncytial virus in cattle and justification of immune correction: Author's abstract of the Candidate of Veterinary Sciences Thesis. Ekaterinburg; 2016. 22 p. eLIBRARY ID: 30436176. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 18.08.2022

Поступила после рецензирования / Revised 21.09.2022

Принята к публикации / Accepted 31.10.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Алексеев Анатолий Дмитриевич, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры инфекционной и незаразной патологии ФГБОУ ВО Уральский ГАУ; начальник ветеринарной службы – главный государственный ветеринарный инспектор ГУФСИН России по Свердловской области, подполковник внутренней службы, г. Екатеринбург, Россия.

Anatoliy D. Alekseev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor of the Department of Infectious and Non-Infectious Pathology, FSBEI HE Ural SAU; Head of the Veterinary Service – Chief State Veterinary Inspector of the Main Directorate of the Federal Penitentiary Service of Russia for the Sverdlovsk Region, lieutenant colonel of internal service, Ekaterinburg, Russia.



Молекулярно-генетический и бактериологический методы диагностики микоплазмоза крупного рогатого скота

Е. В. Ремизова¹, А. В. Горбатов², Л. К. Семина³, З. А. Скулябина⁴, Н. В. Шмидт⁵, Г. А. Балдичева⁶, Н. Н. Авдеевская⁷

^{1,3,4,6,7} Вологодский филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук» (Вологодский филиал ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН), г. Вологда, Россия

² 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

⁵ Бюджетное учреждение ветеринарии Вологодской области «Вологодская областная ветеринарная лаборатория» (БУВВО «Вологодская облветлаборатория»), г. Вологда, Россия

¹ AuthorID: 790839, e-mail: Elena_remizowa@mail.ru

² AuthorID: 739926, e-mail: incidentor@yandex.ru

³ AuthorID: 795877, e-mail: viev_mastit@yandex.ru

⁴ AuthorID: 795900, e-mail: zengira@mail.ru

⁶ AuthorID: 1054756

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-6392-5823>, e-mail: Natali.Avduevskaya@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Микоплазмы – бактерии, лишенные ригидной клеточной стенки, поэтому крайне неустойчивы *in vitro*. Чаще всего их выявляют в ассоциации с другими возбудителями, среди которых есть те, что способны образовывать L-форму под действием антибиотических препаратов. Микоплазменные колонии, так же как и колонии L-форм, имеют вид «яичницы-глазуньи», поэтому для точного диагноза и выбора направления лечения необходимо провести их дифференциацию. В статье приведены данные о диагностике микоплазменной инфекции у крупного рогатого скота и результаты дифференциации выделенных колоний микоплазм и колоний L-форм бактерий методом многократных пассажей и с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Для выполнения поставленных задач были отобраны 177 образцов от животных, имеющих клинические признаки микоплазмоза, из них 45 исследованы молекулярно-генетическим методом, 132 – бактериологическим. При этом ДНК микоплазмы была выявлена в 71,1% проб, специфические колонии – в 3,8% образцов. Такие тесты биохимической идентификации микоплазм, как гидролиз аргинина, разжижение сыворотки крови, образование пленки и пятен, посев на среду с Твином-80, гемадсорбция и гемолиз эритроцитов, не дают объективную оценку видовой принадлежности микоплазм, но, согласно полученным результатам, изолированный вид с наибольшей вероятностью относится к *Mycoplasma dispar*, являющейся патогенной для крупного рогатого скота. Несомненно, полимеразная цепная реакция в режиме реального времени – наиболее точный и быстрый метод диагностики микоплазмоза, но предварительный диагноз можно установить и бактериологически в течение 2–7 сут. Кроме того, при проведении микробиологических тестов возможно провести оценку антибиотикорезистентности изолированных микоплазм, тем самым разработать оптимальную и качественную схему лечения и профилактики заболевания.

Ключевые слова: микоплазма, бактериологическая диагностика, факторная инфекция, микрофлора, пневмония, L-форма бактерии, специфические питательные среды, молекулярно-генетическая диагностика

Благодарности: Исследования выполнены в рамках Государственного задания Минобрнауки России по теме № FGUG-2022-0009 этапа «Культурально-морфологические, биохимические и серологические исследования штаммов микоплазм, выделенных от быков и коров».

Для цитирования: Ремизова Е. В., Горбатов А. В., Семина Л. К., Скулябина З. А., Шмидт Н. В., Балдичева Г. А., Авдеевская Н. Н. Молекулярно-генетический и бактериологический методы диагностики микоплазмоза крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 335–340. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-335-340.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Ремизова Елена Васильевна, старший научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, 160000, г. Вологда, ул. Чехова, д. 10, e-mail: Elena-remizowa@mail.ru.

Molecular genetic and bacteriological methods of bovine mycoplasmosis diagnosis

E. V. Remizova¹, A. V. Gorbatov², L. K. Semina³, Z. A. Skulyabina⁴, N. V. Shmidt⁵, G. A. Baldicheva⁶, N. N. Avduevskaya⁷

^{1,3,4,6,7} Vologda Branch of the Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV” (Vologda Branch of the FSC VIEV), Vologda, Russia

² Federal State Budget Scientific Institution “Federal Scientific Centre VIEV” (FSC VIEV), Moscow, Russia

⁵ State-Financed Veterinary Institution of the Vologda Oblast “Vologda Oblast Veterinary Laboratory” (SFVIVO “Vologda OVL”), Vologda, Russia

¹ AuthorID: 790839, e-mail: Elena_remizowa@mail.ru

² AuthorID: 739926, e-mail: incidentor@yandex.ru

© Ремизова Е. В., Горбатов А. В., Семина Л. К., Скулябина З. А., Шмидт Н. В., Балдичева Г. А., Авдеевская Н. Н., 2022

³ AuthorID: 795877, e-mail: view_mastit@yandex.ru

⁴ AuthorID: 795900, e-mail: zengira@mail.ru

⁶ AuthorID: 1054756

⁷ <https://orcid.org/0000-0002-6392-5823>, e-mail: Natali.Avduevskaya@mail.ru

SUMMARY

Mycoplasmas are bacteria that are extremely unstable *in vitro* as they lack a rigid cell wall. They are most often detected in association with other pathogens, including those that can become L-forms if treated with antibiotics. *Mycoplasma* colonies, as well as colonies of L-form bacteria, have a typical "fried egg" appearance, therefore it is necessary to differentiate them for the accurate diagnosis and choice of treatment. The paper presents data on mycoplasma infection diagnosis in cattle and results of differentiation of isolated mycoplasma and L-form bacteria colonies using multiple passaging and real-time polymerase chain reaction. For that, 177 samples were collected from animals with mycoplasmosis clinical signs, 45 of them were tested using molecular genetic method, 132 samples were subjected to bacteriological testing. *Mycoplasma* DNA was detected in 71.1% of samples, and specific colonies were detected in 3.8% of samples. Such biochemical tests of mycoplasma species identification as arginine hydrolysis, blood serum liquefaction, film and grain formation, inoculation into Tween-80-containing medium, hemadsorption and hemolysis of erythrocytes do not allow an objective assessment of the species belonging to mycoplasmas, but, according to the results obtained, the isolated species most likely belongs to *Mycoplasma dispar*, which is pathogenic for cattle. Real-time polymerase chain reaction is undoubtedly the most accurate and rapid diagnostic method for mycoplasmosis, but a preliminary diagnosis can also be established bacteriologically within 2–7 days. In addition, during microbiological testing, it is possible to assess the antibiotic resistance of mycoplasma isolates, thereby developing an optimal and high-quality scheme of the disease treatment and prevention.

Keywords: *Mycoplasma*, bacteriological diagnosis, factor infection, microflora, pneumonia, L-form bacteria, specific nutrient media, molecular genetic diagnosis

Acknowledgements: The research was carried out within State Programme of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, Topic No. FGUG-2022-0009 at the stage of "Cultural-morphological, biochemical and serological studies of *Mycoplasma* strains isolated from bulls and cows".

For citation: Remizova E. V., Gorbатов A. V., Semina L. K., Skulyabina Z. A., Shmidt N. V., Baldycheva G. A., Avduevskaya N. N. Molecular genetic and bacteriological methods of bovine mycoplasmosis diagnosis. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 335–340. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-335-340.

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

For correspondence: Elena V. Remizova, Senior Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, 160009, Russia, Vologda, ul. Chekhova, 10, e-mail: Elena-remizova@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Микоплазмы (молликуты) – очень мелкие микроорганизмы, способные проходить через бактериальные фильтры и редуцироваться на бесклеточных питательных средах. Они не имеют ригидной клеточной стенки и окружены лишь трехслойной цитоплазматической мембраной, в связи с этим обладают выраженным полиморфизмом, в мазках обнаруживают округлые, овальные и нитевидные образования. Микоплазмы крайне неустойчивы *in vitro*. Их цитоплазматическая мембрана состоит из стериновых липидов, что сближает эти микроорганизмы с эукариотами и отличает от других прокариот [1–3]. Среди микоплазм есть виды, которые вызывают патологические процессы у животных, а также те, что находятся в тесной связи с клетками макроорганизма и не провоцируют инфекцию.

Наибольшую этиологическую значимость в патологии крупного рогатого скота имеют *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma mycoides*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma bovoculi*, *Mycoplasma dispar* [4, 5]. Возбудители микоплазмоза вызывают у животных пневмонии различной тяжести, артриты, конъюнктивиты, вульвовагиниты, эндометриты, маститы, баланопоститы, аборт и бесплодие коров и быков [4, 6, 7]. При патолого-анатомическом вскрытии отмечают ателектаз верхушечных долей легких, многочисленные некротические фокусы, при сочетанных с микоплазмозом инфекциях – массивный спаечный процесс в плевральной полости и абсцессы в легочной ткани [8, 9].

Микоплазмоз распространен повсеместно, не только в зарубежных странах, но и в Российской Федерации. В большинстве случаев протекает бессимптомно и хронически, острые клинические проявления отме-

чаются на фоне снижения общей резистентности организма в осенне-зимний и весенний периоды, зачастую диагностируется случайно. Для микоплазм характерна длительная персистенция в организме. Известно, что микоплазмозом могут болеть до 40% коров в стаде [7, 10], что наносит предприятию огромный экономический ущерб. Вакцинацию против этой инфекции в нашей стране не проводят, меры профилактики должны быть направлены на улучшение условий кормления и содержания животных [11], проведение мониторинга качества спермы и санации коров в сухостойный период, также возможна антибиотикопрофилактика.

Зачастую микоплазмоз диагностируют в ассоциации с такими бактериальными и вирусными инфекциями, как лептоспироз, листериоз, пастереллез, диплококкоз, инфекционный ринотрахеит, вирусная диарея, паратиф и другие [12–15].

Лабораторную диагностику микоплазмоза составляют микробиологическая и молекулярно-биологическая идентификация возбудителя. С целью обнаружения носительства в стаде проводят оценку уровня антител с помощью иммуноферментного анализа (ИФА) [16–18].

Микоплазмы требовательны к составу питательных сред и условиям культивирования, они чувствительны к pH питательной среды, оптимум pH для роста составляет 7,8–8,2. В питательные среды добавляют экстракт дрожжей, глюкозу и сыворотку крови как источники энергии и стерола. Кроме того, большинство видов микоплазм характеризуется медленным размножением, культивирование продолжается несколько недель [19–21].

При выявлении специфических колоний необходимо провести их дифференциацию от L-форм бактерий.

Проблема микоплазма-инфекций тесно связана с учетом об L-формах бактерий. Обнаруженные впервые в культуре *Streptobacillus moniliformis* в 1935 г. были названы L-формой и благодаря своему необычайно-му сходству с микоплазмами первоначально отнесены в группу PPLO-микроорганизмов. При изучении свойств L-форм ученые выяснили, что одни из них могут реверсировать в бактериальную форму, а другие – нет, их стали называть «стабильные L-формы». В 1956 г. для возбудителя перипневмонии крупного рогатого скота было принято название «*M. mycoides*» [22].

К основным аспектам исследований биологии L-форм бактерий и семейства микоплазм следует отнести: изучение их морфологических и физиологических признаков; исследование механизмов превращения бактерий в L-форму; разработку критериев дифференциации L-форм и микоплазм, призванных раскрыть роль L-форм в филогенезе семейства *Mycoplasmataceae* и послужить основой для создания наиболее рациональной схемы классификации данных форм; выяснение роли L-форм бактерий и семейства *Mycoplasmataceae* при патологических процессах, инфекционная природа которых не укладывается в рамки бактериальной или вирусной этиологии [23].

Морфологические особенности L-форм и микоплазм, а именно отсутствие ригидной клеточной стенки, обуславливает их высокую пластичность, хрупкость и выраженный полиморфизм. Физиологические особенности L-форм и микоплазм в значительной степени связаны с особенностями их тонкой структуры. Обе группы близки по составу белков, углеводов и липидов, литические агенты, разрушающие липопротеины, растворяют обе группы микроорганизмов [24]. Осмотический шок не оказывает резкого действия на микоплазмы и соленезависимые L-формы [25].

Микоплазмы, так же как и L-формы, устойчивы к действию тех антибиотиков и лекарственных средств, исходное действие которых связано с ингибированием синтеза клеточной стенки микроорганизмов. Лизоцим, который, как известно, действует на β -глюкозидные связи клеточной оболочки, не действует ни на L-формы, ни на микоплазмы.

Адекватным высокочувствительным современным методом диагностики микоплазмоза является полимеразная цепная реакция (ПЦР), направленная на выявление ДНК и видовую идентификацию возбудителей микоплазмоза. Этот метод в ветеринарной практике широко используют в основном для массовых исследований в комплексе с другими методами или как метод экспресс-диагностики инфекций [26, 27].

Целью данной работы явилось изучение культурально-морфологических свойств микоплазм и их дифференциация от L-форм бактерий, а также поиск высокочувствительных и качественных методов диагностики и дифференциальной диагностики микоплазмоза крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проводилась в Вологодском филиале ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (г. Вологда), ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН (г. Москва) и БУВВО «Вологодская облветлаборатория» (г. Вологда).

Материалом для бактериологического исследования являлись: цервикальная слизь ($n = 35$) и секрет молочной железы коров ($n = 30$), назальная ($n = 58$), конь-

юнктивальная ($n = 6$) и препуциальная слизь ($n = 1$) телят разного возраста, а также патолого-анатомический материал от двух телят – пробы легочной ткани (участок условно здоровой ткани, граница «патология – норма», участок с патолого-анатомическими изменениями) и пробы из средостенных лимфатических узлов, морфологическая структура которых была не нарушена.

Для ПЦР-исследования использовали цервикальную ($n = 18$), назальную ($n = 18$), конъюнктивальную ($n = 2$), препуциальную слизь ($n = 1$), кровь ($n = 1$) и патолого-анатомический материал ($n = 2$) от телят разного возраста.

Первичный посев материала проводили в жидкую и плотную питательные среды, изготовленные на основе мясо-пептонного бульона или агара и бульона Мартена, с добавлением 20% сыворотки крови лошади, 10% дрожжевого экстракта, ингибиторов роста посторонней микрофлоры. Дальнейшие пересевы проводили на плотную питательную среду, при этом использовали метод агаровых блоков, а также гомогенизации агаровых блоков в физиологическом растворе. При обнаружении специфических колоний проводили их микроскопию с последующей идентификацией. Контроль роста на жидкой питательной среде осуществляли ежедневно, визуально оценивали степень мутности, наличие осадка и пленки в течение 14 дней. Далее производили пересев материала на плотную питательную среду, контроль за посевами осуществляли также в течение 14 дней [3, 20].

В ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) использовали праймеры на обнаружение ДНК микоплазм в соответствии с инструкцией, прилагаемой к набору реагентов «ПЦР-МИКОПЛАЗМОЗ-ФАКТОР» (ООО «ВЕТ ФАКТОР», Россия).

При проведении исследований руководствовались «Методическими рекомендациями по выделению, культивированию и идентификации микоплазм, ахолеплазм и уреоплазм» [20].

Изучение некоторых культуральных и ферментативных признаков, а именно: образование пленки и пятен, посев на среду с Твином-80 (принадлежность к *M. bovis*), гидролиз аргинина, разжижение сыворотки крови, реакцию гемадсорбции и гемолиз колоний, проводили согласно методикам Л. Штипкович [1].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Образцы биоматериала отбирали от животных, имеющих клинические проявления микоплазмоза: у коров – хронические маститы, эндометриты, аборты в анамнезе, у телят – риниты, конъюнктивиты, баланопоститы, артриты и пневмонии. До отправки в лабораторию пробы хранили в физиологическом растворе.

Всего для исследования в ПЦР-РВ взяты 45 проб. Результаты представлены в таблице.

Установлено, что из 45 образцов положительными оказались 32 (71,1%). В одном случае ДНК микоплазмы обнаружена в цервикальной слизи матери и назальной слизи теленка, в пяти – ДНК микоплазмы выявлена в назальной слизи и не обнаружена в крови телят.

Бактериологически было исследовано 132 образца биоматериала. Специфические колонии микоплазм изолированы лишь в пяти из них (3,8%): в четырех пробах назальной слизи и одной пробе патологического материала (ткань лимфатического узла средостения) от павшего теленка.

Таблица
Результаты исследования образцов в ПЦР-РВ на наличие ДНК *Mycoplasma* spp.

Table
RT-PCR results for samples tested for presence of *Mycoplasma* spp. DNA

Исследуемый материал	Выявление ДНК <i>Mycoplasma</i> spp.		
	ДНК обнаружена	ДНК не обнаружена	Итого
Цервикальная слизь коров	11	7	18
Назальная слизь телят	17	1	18
Конъюнктивальная слизь телят	2	0	2
Кровь телят	0	5	5
Патматериал	2	0	2
Итого	32	13	45

Первичный посев патолого-анатомических образцов легочной ткани и лимфатических узлов средостения осуществляли в жидкую питательную среду. В течение 14 дней наблюдения помутнения бульона, появления пленки и осадка не зафиксировано. При пересеве на плотную питательную среду еще через 14 дней были обнаружены колонии, морфологически схожие с колониями *Mycoplasma* spp.

Как видно на рисунке 1, колонии имеют характерный вид «яичницы-глазуньи» с приподнятым центром и более светлой периферической частью.

На фотографии также виден рост посторонней микрофлоры, поэтому появились сомнения в принадлежности колоний к микоплазменным. В результате окраски мазков неспецифических колоний по Граму и Романовскому – Гимзе были установлены бактерии, схожие по структуре с одноклеточными грибами (идентификацию не проводили).

Дальнейшие исследования были направлены на дифференциацию колоний микоплазм от колоний L-форм бактерий и получение чистой культуры микоплазм данного вида методом многократных пассажей.

Точечно под контролем микроскопа иссекали нужные колонии и пересевали блоками на плотную и жидкую питательные среды с ингибиторами и без ингиби-

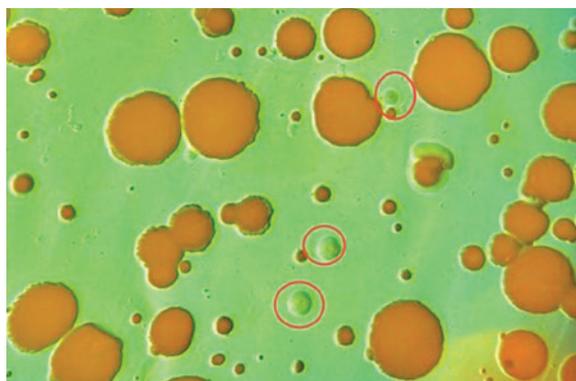


Рис. 1. Рост смешанной микрофлоры на плотной обогащенной питательной среде, колонии микоплазм обведены красным (микроскоп стереоскопический МБС-10, увеличение 14 × 2)

Fig. 1. Growth of mixed microflora in solid enriched nutrient medium, *Mycoplasma* colonies are circled in red (MBS-10 stereoscopic microscope, 14 × 2 magnification)

торов, а также блоки суспендировали в физрастворе. При этом рост микоплазм был отмечен на первые – третьи сутки (рис. 2).

В ходе исследования установили, что колонии остались схожими с колониями микоплазм, но уже имели более выраженную центральную часть. Для подтверждения результата собственных исследований колонии помещали в физиологический раствор и проводили ПЦР-исследование на принадлежность к *Mycoplasma* spp. Все образцы оказались положительными.

Первичный посев цервикальной, назальной, конъюнктивальной, препуциальной слизи и секрета молочной железы осуществляли на плотную питательную среду. При этом специфические колонии в посевах назальной слизи были обнаружены через 48 ч. Они также были отнесены к *Mycoplasma* spp. по результатам молекулярно-генетического метода и метода многократных пассажей.

Некоторые биохимические тесты показали, что с наибольшей вероятностью изолированные штаммы относятся к *M. dispar*, которая является возбудителем микоплазмоза крупного рогатого скота.

На рисунке 3а показан рост микоплазм на среде с Твином-80, которую используют для определения принадлежности к *M. bovis*. Реакция считается положительной, если вокруг колоний образуется светлое кольцо, на фото виден отрицательный результат.

Покраснение среды (повышение pH) свидетельствует о гидролизе микоплазмами аргинина (рис. 3б). Следует отметить, что данным биологическим свойством обладают *M. alcaescens*, *M. arginini*, *M. canadense*.

При идентификации микоплазм с помощью теста «разжижение сыворотки крови» получен положительный результат: образовалась жидкость, появились полости и разрывы (рис. 3с).

Также при росте на питательных средах не было отмечено образования пленок (представляют собой холестеролы и фосфолипиды) и зерен (состоят из выпавших в осадок солей магния и кальция), что свидетельствует об отсутствии липолитического действия микоплазм. При проведении работ по изучению гемадсорбирующих и гемолитических свойств с использова-

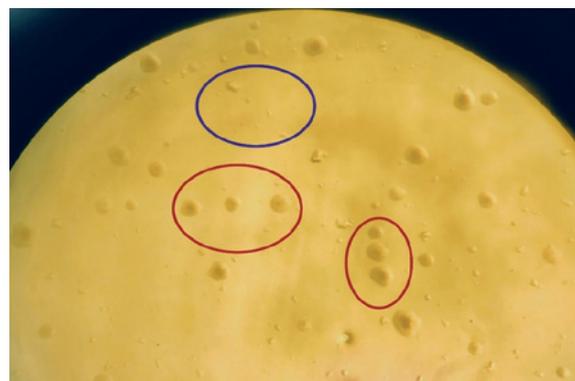


Рис. 2. Чистая культура микоплазм: красным обведены колонии микоплазм, синим – кусочки питательной среды от предыдущего пассажа (микроскоп стереоскопический МБС-10, увеличение 14 × 2)

Fig. 2. Pure *Mycoplasma* culture: *Mycoplasma* colonies are circled in red, parts of nutrient medium from the previous passage are circled in blue (MBS-10 stereoscopic microscope, 14 × 2 magnification)

нием эритроцитов крупного рогатого скота получен отрицательный результат.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исходя из представленных результатов, наиболее быстрая и точная диагностика микоплазменной инфекции у крупного рогатого скота сводится к проведению молекулярно-генетических исследований, однако предварительный диагноз можно установить и бактериологически в течение 2–7 сут. Кроме того, при использовании микробиологических тестов можно провести оценку антибиотикорезистентности изолированных микоплазм, тем самым разработать оптимальную и качественную схему лечения и профилактики. При молекулярно-генетическом и бактериологическом методах диагностики микоплазмоза возможны ложноотрицательные результаты, но ввиду небольшой скорости роста микоплазм и резистентности ассоциированной микрофлоры к антимикробным средствам, входящим в состав питательных сред, при бактериологическом методе их гораздо больше.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коромыслов Г. Ф., Месарош Я., Штипкович Л. и др. Микоплазмы в патологии животных. М.: Агропромиздат; 1987. 256 с.
2. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П., Стейли Дж., Уилльямс С. Определитель бактерий Берджи. В 2 т. М.: Мир; 1997. 800 с.
3. Скородумов Д. И., Субботин В. В., Сидоров М. А., Костенко Т. С. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных: справочник. М.: Изограф; 2005. 656 с.
4. Красиков А. П., Рудаков Н. В. Микоплазмозы человека и животных и их эпидемиологическое значение: монография. Омск: Омский научный вестник; 2015. 717 с.
5. Eissa S. I., Hassan A. M., Hashem Y. M., Shaker M. M. Comparative molecular study of *Mycoplasma bovis* isolates from Egyptian buffaloes and cows suffered from mastitis. *European J. Biol. Sci.* 2012; 4 (4): 114–120. DOI: 10.5829/idosi.ejbs.2012.4.4.6668.
6. Коваленко Я. Р. Новые данные в изучении микоплазм и микоплазмозов животных. *Труды ВИЭВ.* 1977; 46: 3–7. eLIBRARY ID: 22403215.
7. Васильев Р. М., Васильева С. В. Иммунобиологические свойства вагинального секрета у здоровых и больных микоплазмозом коров. *Медицинская иммунология.* 2021; 23 (4): 987–990. DOI: 10.15789/1563-0625-IBP-2278.
8. Пудовкин Д. Н., Щепеткина С. В., Карпенко Л. Ю., Ришко О. А. Болезни молодняка крупного рогатого скота: практические рекомендации. 2-е изд. доп. СПб.: ФГБОУ ВПО «СПбГАВМ»; 2019. 204 с.
9. Гречаний В. С., Ключников А. Г., Карташов С. Н. Патоморфологические особенности пневмонии у телят, вызванных ВПГ-3, *Mycoplasma bovis* и *Haemophilus somnus*. *Ветеринарная патология.* 2010; 3 (34): 85–89. eLIBRARY ID: 16701725.
10. Смирнова Л. И., Темникова Л. В. Лабораторная диагностика ассоциированных урогенитальных микоплазменных инфекций крупного рогатого скота. *Международный вестник ветеринарии.* 2008; 4: 6–9. eLIBRARY ID: 23066526.
11. Красиков А. П., Вологодская О. В., Алексеева И. Г., Водопьянова Н. И. Профилактика носительства ассоциаций патогенных микроорганизмов у беременных коров и нетелей. *Ветеринарная патология.* 2006; 3 (18): 144–147. eLIBRARY ID: 16823125.
12. Красиков А. П., Трофимов И. Г., Алексеева И. Г., Заболотных М. В. Комплексная диагностика ассоциативных инфекционных болезней крупного рогатого скота. *Ветеринарная патология.* 2014; 1 (47): 13–21. eLIBRARY ID: 21757161.
13. Лукьянова И. А., Ермакова Т. В., Плешакова В. И., Хатько Н. Ф. Ассоциативные вирусно-бактериальные респираторные инфекции крупного рогатого скота в Омском регионе. *Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии имени В. Р. Филিপцова.* 2012; 2 (27): 7–10. eLIBRARY ID: 17784122.
14. Трухоненко А. А., Строганова И. Я. Микоплазмы крупного рогатого скота в хозяйстве, неблагоприятном по вирусным болезням. *Инновационные тенденции развития российской науки: материалы VII Международной научно-практической конференции молодых ученых (24–26 марта, 2014 г.)*. Красноярск: Красноярский ГАУ; 2014. 117–118.
15. Свиридова А. Н. Схемы лечения телят и лабораторные методы контроля их эффективности при микоплазмоз-ассоциированной ин-

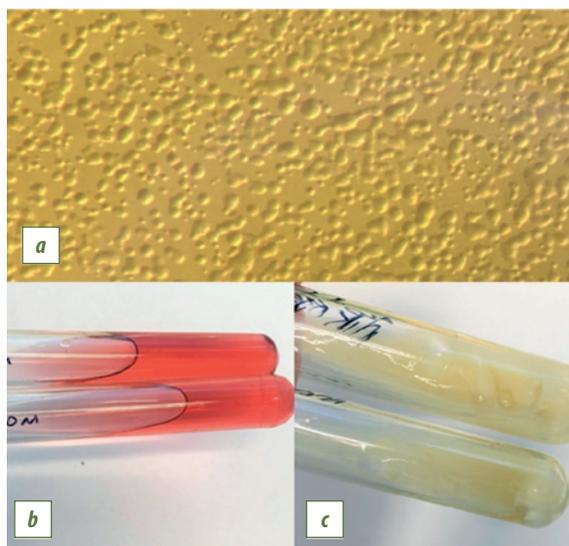


Рис. 3. Биохимические свойства выделенной микоплазмы: а – тест «посев на среду с Твином-80» (принадлежность к *M. bovis*); б – гидролиз аргинина; с – разжижение сыворотки крови

Fig. 3. Biochemical properties of isolated *Mycoplasma*: а – inoculation into medium supplemented with Tween-80 (test for typing as *M. bovis*); б – hydrolysis of arginine; с – liquefaction of blood serum

фекции. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки.* 2007; 6: 69–74. eLIBRARY ID: 9497384.

16. Строганова И. Я., Трухоненко А. А., Гуменная Е. Ю. Полимеразная цепная реакция в диагностике микоплазмозов крупного рогатого скота в хозяйствах Восточной Сибири. *Вестник КрасГАУ.* 2014; 12: 147–150. eLIBRARY ID: 22895357.

17. Безбородова Н. А., Кожуховская В. В. Значение молекулярно-биологических методов для диагностики инфекционных болезней крупного рогатого скота. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии.* 2018; 4 (40): 22–25. eLIBRARY ID: 36702271.

18. Шнейдер Э. Д., Макавич С. А. Идентификация и диагностика микоплазменных маститов коров при помощи бактериологических и молекулярно-генетических методов. *Бактериология.* 2018; 3 (1): 22–25. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-22-25.

19. Козлов Д. А., Волков М. С., Черняева Т. Ю., Сорокина М. И., Ирза В. Н. Влияние сыворотки крови крупного рогатого скота на ростовые свойства питательной среды для культивирования *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*. *Ветеринария сегодня.* 2022; 11 (2): 156–162. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-156-162.

20. Коваленко Я. Р., Шегидевич Э. Ф., Яблонская И. А. и др. Методические рекомендации по выделению, культивированию и идентификации микоплазм, ахлеплазм и уреаплазм. М.: ВАСХНИЛ; 1982. 47 с.

21. Суханова С. М., Бердникова З. Е., Тихонова А. С. Совершенствование методики оценки качества питательной среды для выявления микоплазм. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика и лечение.* 2019; 19 (3): 161–168. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-3-161-168.

22. Klieneberger E. The natural occurrence of pleuropneumonia-like organism in apparent symbiosis with *Streptobacillus moniliformis* and other bacteria. *J. Pathol.* 1935; 40 (1): 93–105. DOI: 10.1002/PATH.1700400108.

23. Тимаков В. Д., Каган Г. Я. Биология L-форм бактерий. М.: Медгиз; 1961. 235 с.

24. Plackett P., Buttery S. H., Cottew G. S. Carbohydrates of some *Mycoplasma* strains. In: *Recent Progress in Microbiology VIII: Symposia Held at the VIII International Congress for Microbiology Montreal.* Ed. N. E. Gibbons. University of Toronto Press; 1962; 535–548. Режим доступа: <http://www.jstor.org/stable/10.3138/j.ctt1vgw69r.74>.

25. Тимаков В. Д., Каган Г. Я. Семейство *Mycoplasmataceae* и L-формы бактерий. М.: Медицина; 1967. 336 с.

26. Козлова А. Д., Горбачева Н. С., Хаерова Р. Ф., Красникова М. С., Лазарева Е. А., Яцентюк С. П. Дифференциация *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma californicum* и выявление *Ureaplasma diversum* методом ПЦР в реальном времени. *Сельскохозяйственная биология.* 2019; 54 (2): 378–385. DOI: 10.15389/agrobiology.2019.2.378rus.

27. Доронин М. И., Лозовой Д. А., Щербак А. В., Макаров В. В. Применение метода ПЦР в режиме реального времени в ветеринарной практике. *Российский ветеринарный журнал.* 2020; 2 (6): 5–12. DOI: 10.32416/2500-4379-2020-2-5-12.

REFERENCES

- Koromyslov G. F., Mesarosh Ya., Shtipkovich L., et al. *Mycoplasma* species in animal pathology. Moscow: Agropromizdat; 1987. 256 p. (in Russ.)
- Holt J. G., Krieg N. R., Sneath P. H. A., Staley J. T., Williams S. T. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994. 787 p.
- Skorodumov D. I., Subbotin V. V., Sidorov M. A., Kostenko T. S. Microbiological diagnosis of bacterial animal diseases: Handbook. Moscow: Izograf; 2005. 656 p. (in Russ.)
- Krasikov A. P., Rudakov N. V. Mycoplasmoses in humans and animals and their epidemiological significance: Monograph. Omsk: Omsk Scientific Bulletin; 2015. 717 p. (in Russ.)
- Eissa S. I., Hassan A. M., Hashem Y. M., Shaker M. M. Comparative molecular study of *Mycoplasma bovis* isolates from Egyptian buffaloes and cows suffered from mastitis. *European J. Biol. Sci.* 2012; 4 (4): 114–120. DOI: 10.5829/idosi.ejbs.2012.4.4.6668.
- Kovalenko Ya. R. Novye dannye v izuchenii mikoplazm i mikoplazmozov zhivotnykh = New study data on animal mycoplasmas and mycoplasmoses. *Trudi VIEV*. 1977; 46: 3–7. eLIBRARY ID: 22403215. (in Russ.)
- Vasiliev R. M., Vasilieva S. V. Immuno-biological properties of vaginal discharge in healthy and mycoplasmosis-infected cows. *Medical Immunology (Russia)*. 2021; 23 (4): 987–990. DOI: 10.15789/1563-0625-IBP-2278.
- Pudovkin D. N., Shchepetkina S. V., Karpenko L. Y., Rishko O. A. Diseases of young cattle: practical recommendations. 2nd ed. supplemented. Saint Petersburg: FSBEI HPE SPbGAVM; 2019. 204 p. (in Russ.)
- Grechaniy V. S., Klyuchnikov A. G., Kartashov S. N. Patomorfologichesky features of the pneumonia at the calves caused by association virus parainfluenza-3, *Mycoplasma bovis* and *Haemophilus somnus*. *Veterinarnaya patologiya*. 2010; 3 (34): 85–89. eLIBRARY ID: 16701725. (in Russ.)
- Smirnova L. I., Temicova L. V. Laboratory diagnostic of association urogenitalis infections by *Mycoplasma* of large horned livestock. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2008; 4: 6–9. eLIBRARY ID: 23066526. (in Russ.)
- Krasikov A. P., Vologodskaya O. V., Alekseeva I. G., Vodop'yanova N. I. Profilaktika nositel'stva assotsiatsii patogennykh mikroorganizmov u beremennykh korov i netelei = Prevention of carriage of pathogenic microorganisms associations in pregnant cows and heifers. *Veterinarnaya patologiya*. 2006; 3 (18): 144–147. eLIBRARY ID: 16823125. (in Russ.)
- Krasikov A. P., Trofimov I. G., Alekseeva I. G., Zabolotnysh M. V. Complex diagnosis of mixed infective diseases in cattle. *Veterinarnaya patologiya*. 2014; 1 (47): 13–21. eLIBRARY ID: 21757161. (in Russ.)
- Lukjanova I., Ermakova T., Pleshakova V., Hatko N. Associative respiratory viral-bacterial infections of cattle in Omsk region. *Vestnik of Buryat State Academy of Agriculture named after V. Philippov*. 2012; 2 (27): 7–10. eLIBRARY ID: 17784122. (in Russ.)
- Trukhonenko A. A., Stroganova I. Ya. Mikoplazmy krupnogo rogatogo skota v khozyaistve, neblagopoluchnom po virusnym boleznyam = Bovine mycoplasmas in a holding infected with viral diseases. *Innovatsionnye tendentsii razvitiya rossijskoi nauki: materialy VII Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii molodykh uchenykh (24–26 marta, 2014 g.) = Innovative trends in the development of Russian science: proceedings of the VII International Scientific and Practical Conference of Early Career Researchers (March 24–26, 2014)*. Krasnoyarsk: KrasGAY; 2014. 117–118. (in Russ.)
- Sviridova A. N. Treatment regimens and laboratory testing methods of their efficiency applied for calves affected with mycoplasmosis-associated infection. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2007; 6: 69–74. eLIBRARY ID: 9497384. (in Russ.)
- Stroganova I. Ya., Trukhonenko A. A., Gumennaya E. Yu. Polymerase chain reaction in diagnosis of the cattle mycoplasmosis in the Eastern Siberia animal farms. *The Bulletin of KrasGAVU*. 2014; 12: 147–150. eLIBRARY ID: 22895357. (in Russ.)
- Bezborodova N. A., Kozhukhovskaya V. V. The importance of molecular-biological methods for diagnosis of cattle infectious diseases. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2018; 4 (40): 22–25. eLIBRARY ID: 36702271. (in Russ.)
- Shneyder E. D., Makavchik S. A. Identification and diagnostics of pathogens of bovine mycoplasma mastitis by bacteriological and molecular genetic methods. *Bacteriology*. 2018. 3 (1): 22–25. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-1-22-25. (in Russ.)
- Kozlov D. A., Volkov M. S., Chernyayeva T. Yu., Sorokina M. I., Irza V. N. Influence of bovine blood serum on growth properties of nutrient media for *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* cultivation. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 156–162. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-156-162.
- Kovalenko Ya. R., Shegidevich E. F., Yablonskaya I. A., et al. Guidelines for isolation, cultivation and identification of mycoplasmas, achholeplasmas and ureaplasmas. Moscow: VASKhNIL; 1982. 47 p. (in Russ.)
- Sukhanova S. M., Berdnikova Z. E., Tikhonova A. S. Ways to improve quality control of culture medium used for *Mycoplasma* detection. *BIOPreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019; 19 (3): 161–168. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-3-161-168. (in Russ.)
- Klieneberger E. The natural occurrence of pleuropneumonia-like organism in apparent symbiosis with *Streptobacillus moniliformis* and other bacteria. *J. Pathol.* 1935; 40 (1): 93–105. DOI: 10.1002/PATH.1700400108.
- Timakov V. D., Kagan G. Ya. Biology of L-form bacteria. Moscow: Medgiz; 1961. 235 p. (in Russ.)
- Plackett P., Buttery S. H., Cottew G. S. Carbohydrates of some *Mycoplasma* strains. In: *Recent Progress in Microbiology VIII: Symposia Held at the VIII International Congress for Microbiology Montreal*. Ed. N. E. Gibbons. University of Toronto Press; 1962; 535–548. Available at: <http://www.jstor.org/stable/10.3138/j.ctt1vgw69r.74>.
- Timakov V. D., Kagan G. Ya. Family *Mycoplasmataceae* and L-form bacteria. Moscow: Meditsina; 1967. 336 c. (in Russ.)
- Kozlova A. D., Gorbacheva N. S., Hayerova R. F., Krasnikova M. S., Lazareva E. A., Yatsentyuk S. P. Differentiation of *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma bovigenitalium*, *Mycoplasma californicum* and identification of *Ureaplasma diversum* by real-time PCR. *Agricultural Biology*. 2019; 54 (2): 378–385. DOI: 10.15389/agrobiol.2019.2.378eng.
- Doronin M. I., Lozovoy D. A., Shcherbakov A. V., Makarov V. V. Application of the real-time PCR in veterinary practice. *Russian veterinary journal*. 2020; 2 (6): 5–12. DOI: 0.32416/2500-4379-2020-2-5-12. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 28.10.2022

Поступила после рецензирования / Revised 09.11.2022

Принята к публикации / Accepted 21.11.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ремизова Елена Васильевна, старший научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Вологда, Россия.

Горбатов Александр Вениаминович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, Россия.

Сёмина Людмила Константиновна, ведущий научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Вологда, Россия.

Скулябина Зоя Александровна, старший научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Вологда, Россия.

Шмидт Наталья Вячеславовна, ветеринарный врач БУВВО «Вологодская облветлаборатория», г. Вологда, Россия.

Балдичева Галина Александровна, младший научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Вологда, Россия.

Авдеевская Наталья Николаевна, научный сотрудник Вологодского филиала ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Вологда, Россия.

Elena V. Remizova, Senior Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, Vologda, Russia.

Alexander V. Gorbatov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Head of Laboratory of Microbiology, FSC VIEV, Moscow, Russia.

Lyudmila K. Semina, Leading Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, Vologda, Russia.

Zoya A. Skulyabina, Senior Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, Vologda, Russia.

Natalia V. Schmidt, Veterinarian, SFVIVO "Vologda OVL", Vologda, Russia.

Galina A. Baldicheva, Junior Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, Vologda, Russia.

Natalia N. Avduevskaya, Researcher, Vologda Branch of the FSC VIEV, Vologda, Russia.



Применение полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для изучения ситуации по сенекавирусной инфекции в России

М. В. Тиманов¹, А. М. Тимина², М. В. Бирюченкова³

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

¹ <https://orcid.org/0000-0001-7496-3043>, e-mail: timanov@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-0109-3507>, e-mail: timina@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-9131-8839>, e-mail: biruchenkova@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

Сенекавирус – новый вирус, принадлежащий к роду *Senecavirus* семейства *Picornaviridae*, ранее называвшийся вирусом долины Сенека, который может вызывать идиопатическую везикулярную болезнь, клинически неотличимую от ящура, везикулярной стоматиты и везикулярной болезни свиней, тем самым представляя большую угрозу для свиноводческих хозяйств. В последние годы в зарубежной литературе приводятся сведения о присутствии сенекавируса А в стадах свиней таких стран, как Бразилия, США, Колумбия, Китай и Таиланд. Для обеспечения контроля сенекавирусной инфекции решающее значение имеет точная диагностика. В настоящей работе представлены результаты изучения ситуации по данному заболеванию в Российской Федерации с использованием методов генодиагностики. В исследовании были использованы праймеры и зонды для полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени, описанные V. L. Fowler et al. в 2017 г., однако условия проведения реакции были оптимизированы. Анализ специфичности метода показал отсутствие перекрестной реактивности с другими тестируемыми вирусами. С помощью разработанного метода обнаружения вирусной РНК было изучено распространение сенекавируса в свиноводческих хозяйствах на территории Российской Федерации. В период с 2018 по 2020 г. было исследовано 1577 образцов биологического материала от свиней разных возрастных групп из 112 хозяйств 37 регионов страны. Сенекавирус был обнаружен в одном из хозяйств Уральского федерального округа. Есть предположение, что на данный свинокомплекс инфекционный агент попал при введении хозяйства в эксплуатацию в 2015 г. и комплектовании племенным молодняком, ввезенным из Канады. Это первое сообщение об обнаружении сенекавируса на территории Российской Федерации. Поскольку существует угроза заноса возбудителя из других стран, возникает необходимость изучения и контроля сенекавирусной инфекции. Разработанный метод может быть использован в качестве потенциального, чувствительного метода для диагностики данного инфекционного заболевания.

Ключевые слова: сенекавирус, полимеразная цепная реакция в реальном времени, биоматериал от животных

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

Для цитирования: Тиманов М. В., Тимина А. М., Бирюченкова М. В. Применение полимеразной цепной реакции в режиме реального времени для изучения ситуации по сенекавирусной инфекции в России. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 341–346. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-341-346.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Тиманов Максим Викторович, ведущий ветеринарный врач референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: timanov@arriah.ru.

Use of real-time polymerase chain reaction for investigation of Senecavirus infection occurrence in Russia

M. V. Timanov¹, A. M. Timina², M. V. Biryuchenkova³

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

¹ <https://orcid.org/0000-0001-7496-3043>, e-mail: timanov@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-0109-3507>, e-mail: timina@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0001-9131-8839>, e-mail: biruchenkova@arriah.ru

SUMMARY

Senecavirus, previously known as Seneca valley virus, is an emerging virus belonging to *Senecavirus* genus, *Picornaviridae* family, that can cause idiopathic vesicular disease clinically indistinguishable from foot-and-mouth disease, vesicular stomatitis and swine vesicular disease and thereby posing a great threat for pig holdings. Recently, evidence of Senecavirus A occurrence in pig herds in such countries as Brazil, the USA, Colombia, China and Thailand has been provided in foreign literature. Accurate diagnosis is crucial for of Senecavirus infection control. Results of studying the disease situation with genodiagnostic methods in the Russian Federation are presented in the paper. Primers and probe for real-time RT-PCR described by V. L. Fowler et al. in 2017 were used but the reaction conditions were optimized.

Analysis of the method for its sensitivity showed absence of cross-reactivity with other tested viruses. The developed method for virus RNA detection was used to investigate senecavirus occurrence in pig holdings in the Russian Federation. A total of 1,577 samples of biological materials collected from pigs of different ages in 112 holdings located in 37 regions of the country were tested during 2018–2020. Senecavirus was detected in one holding located in the Urals Federal Okrug. It was supposed that the infectious agent had entered the said pig holding at the time of putting of the said holding into operation in 2015 and introduction of young breeding animals imported from Canada. This is the first report on Senecavirus detection in the Russian Federation. The threat of the pathogen introduction from other countries requires further Senecavirus infection investigation and control. The developed method can be used as a potential sensitive method for the said infectious disease diagnosis.

Keywords: Senecavirus, real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (rt RT-PCR), biomaterials from animals

Acknowledgements: The work was funded by the FGBI "ARRIAH" as a part of the research activities "Animal Health and Welfare".

For citation: Timanov M. V., Timina A. M., Biryuchenkova V. V. Use of real-time polymerase chain reaction for investigation of Senecavirus infection occurrence in Russia. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 341–346. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-341-346.

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

For correspondence: Maksim V. Timanov, Leading Veterinarian, Laboratory for Highly Dangerous Diseases, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: timanov@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Сенекавирус (*Senecavirus*, Seneca Valley virus, или вирус долины Сенека) представляет собой безоболочечный вирус, содержащий одноцепочечную (+)РНК, принадлежащий к роду *Senecavirus* семейства *Picornaviridae*. Геном сенекавируса имеет размер приблизительно 7200 пар нуклеотидов и состоит из нетранслируемых областей на обоих концах генома (5'-UTR и 3'-UTR) и большой открытой рамки считывания (ORF), которая кодирует один большой полипротеин, расщепляющийся на лидерный белок (L), 4 структурных белка (VP1–VP4) и 7 неструктурных белков (2A–2C и 3A–3D) [1, 2].

Сенекавирус – относительно новый и малоизученный вирус. Первоначально он был идентифицирован как контаминант культуры клеток сетчатки глаза человека (PER.C6) в 2002 г. в лабораториях Национальной ветеринарной службы Министерства сельского хозяйства США (NVSL) и использовался многими исследователями в качестве онколитического агента для лечения нейроэндокринных опухолей человека [3–5]. В 2005 г. N. J. Knowles and P. Hallenbeck была описана полная последовательность генома, а уже в 2008 г. в Канаде были получены доказательства того, что сенекавирус связан с идиопатической везикулярной болезнью свиней [6, 7].

Интерес к изучению сенекавируса значительно вырос в последние несколько лет.

Первая вспышка сенекавирусной инфекции в свиноводческих хозяйствах была зарегистрирована в Канаде в 2007 г. [7]. Впоследствии в США в 2012 г. у 6-месячного поросенка были зафиксированы клинические симптомы идиопатической везикулярной болезни свиней, установлено, что причиной заболевания является сенекавирус [8]. Первой провинцией Китая, сообщившей о выявлении сенекавируса в 2015 г., была Гуандун, а затем появились данные о заражении инфекционным агентом свиней в центральных и северных регионах страны. В настоящее время по меньшей мере 14 провинций страны поражены вирусом, но Гуандун остается одной из тех, где частота выявления возбудителя самая высокая. Китайский центр здоровья животных и эпиде-

миологии (CAHEC) сообщил, что только 3 провинции не были затронуты сенекавирусом А [9–11]. С 2014 г. многочисленные случаи возникновения инфекции, вызванной сенекавирусом, также были подтверждены в таких странах, как Бразилия [1, 3, 12–14], Колумбия [15], Таиланд [16] и Вьетнам [17], что указывает на широкое распространение возбудителя в животноводческих хозяйствах разных стран в течение нескольких лет.

Клинические проявления идиопатической везикулярной болезни, вызванной сенекавирусом, неотличимы от таковых при особо опасных болезнях животных, вызванных другими родственными вирусами, такими как вирус везикулярной болезни свиней, вирус везикулярной экзантемы и вирус ящура. Почти во всех случаях у животных наблюдается схожая клиническая картина. У взрослых свиней и поросят-отъемышей появляются везикулы на морде, коронарных связках, губах; образуются афты во рту; могут иметь место межпальцевые поражения, поражения копытного венчика и стопы, приводящие к хромоте; развиваются лихорадка и вялость. Лопнувшие везикулы превращаются в глубокие язвы, которые затягиваются в течение 14 дней. Кроме того, у поросят первой недели жизни могут возникать мышечная слабость, летаргия, чрезмерное слюноотделение, гиперемия кожи, диарея, неврологические проявления и наступает внезапная смерть (так называемая эпидемическая транзиторная неонатальная болезнь). Клинические признаки имеют место в течение 3–10 дней, а затем у выживших животных исчезают [1, 15, 18–22].

Информация о путях передачи сенекавируса на данный момент в литературе представлена в небольшом объеме. Важным способом передачи данного инфекционного агента, вероятно, является прямой контакт. Вирус также выделяется с фекалиями и мочой. Возможна и вертикальная передача возбудителя, на что указывает обнаружение сенекавируса у одно- и двухсуточных поросят [4].

В настоящее время методов специфического лечения и вакцин для профилактики и контроля заболе-

вания, вызванного сенекавирусом А, не существует. Вероятно, это связано с большим разнообразием существующих изолятов.

Современные лабораторные методы, разработанные для диагностики сенекавирусной инфекции, включают выделение вируса в культуре клеток, реакцию нейтрализации вируса, конкурентный иммуоферментный анализ (ИФА), традиционную полимеразную цепную реакцию с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и ОТ-ПЦР в реальном времени [18].

Целью данной работы было изучение ситуации по сенекавирусной инфекции в России с использованием методов генодиагностики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Референтные штаммы. В качестве положительных контрольных образцов при отработке метода и проведения анализа использовали штаммы сенекавируса: СА-01-131395 и MN-88-36695, полученные из Института Пирбрайта (Великобритания).

Для проверки специфичности теста использовали штаммы вируса ящура (О/Саудовская Аравия/08, А/Турция/06, Asia-1/Shamir 3/89), вируса везикулярной болезни свиней (№ 663/73) из Государственной коллекции штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ», а также культуру клеток ВНК-21.

Патологический материал. Диагностическим исследованиям подвергали пробы биологического материала, отобранные от свиней в свиноводческих хозяйствах России в 2018–2020 гг.

Выделение РНК из 10%-й суспензии биоматериала осуществляли с использованием 6 М гуанидин тиоцианата и стекловолокнистых фильтров GF/F [23].

ОТ-ПЦР в реальном времени (ОТ-ПЦР-РВ). Использовали праймеры и зонд, описанные V. L. Fowler et al. [18]. Реакцию проводили в 25 мкл смеси, содержащей по 0,5 мкл (5 пм) прямого и обратного праймеров, 0,5 мкл (5 пм) зонда, 2,5 мкл 10× буфера для ПЦР, 4 мкл 25 мМ MgCl₂, 0,7 мкл 25 мМ NTPs, 0,2 мкл (1 ед) TaqДНК-полимеразы, 0,4 мкл (20 ед) MMLV ревертазы, 11 мкл воды без нуклеаз и 5 мкл РНК. Программа амплификации включала в себя этапы обратной транскрипции при 60 °С 30 мин с последующей денатурацией при 95 °С 10 мин и 50 циклов собственно ПЦР (денатурация при 95 °С 15 сек, отжиг и элонгация при 60 °С 1 мин). Все реакции проводили на термоциклере С1000 Touch™ с измерительным модулем CFX96 (Bio-Rad, США).

При валидации методики были определены такие характеристики метода, как предел детекции и специфичность, сходимость и воспроизводимость, эффективность амплификации [24, 25].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ОТ-ПЦР-РВ использовали праймеры и зонд, описанные V. L. Fowler et al. [18], однако условия проведения реакции значительно отличались. В связи с этим в начале работы была проведена валидация метода.

Специфичность ОТ-ПЦР-РВ проверяли на РНК следующих вирусов: вируса ящура (О/Саудовская Аравия/08, А/Турция/06, Asia-1/Shamir 3/89), вируса везикулярной болезни свиней (№ 663/73), а также использовали культуру клеток ВНК-21 и РНК, выделенную из эпителия языка здоровых свиней (всего 9 проб). Положительный результат наблюдали только в образцах, содержащих РНК сенекавируса. Во всех остальных случаях результа-

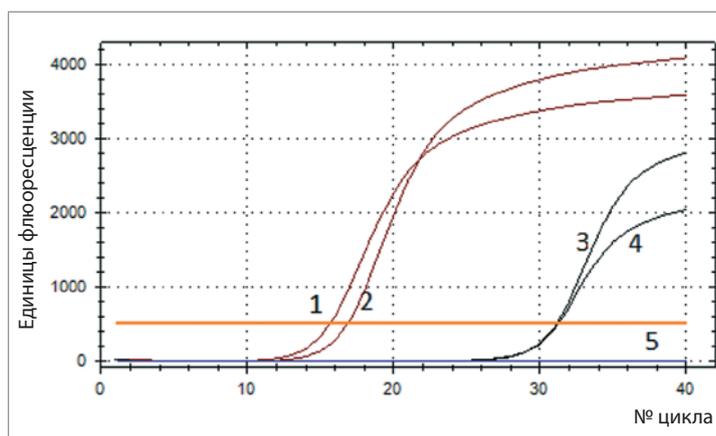


Рис. Обнаружение сенекавируса методом ОТ-ПЦР-РВ

Fig. Detection of Senecavirus with rtRT-PCR:

- 1 – референтный штамм сенекавируса CA-01-131395 / CA-01-131395 reference Senecavirus strain;
- 2 – референтный штамм сенекавируса MN-88-36695 / MN-88-36695 reference Senecavirus strain;
- 3 – полевой изолят сенекавируса (обнаружен в мозге поросенка) / field Senecavirus isolate (detected in piglet brain);
- 4 – полевой изолят сенекавируса (обнаружен в суставах поросенка) / field Senecavirus isolate (detected in piglet joints);
- 5 – пробы, отрицательные в отношении сенекавируса (вирус ящура, вирус везикулярной болезни свиней, культура клеток ВНК-21, эпителий здоровых свиней) / Senecavirus-negative samples (foot-and-mouth disease virus, swine vesicular disease virus, BHK-21 cell culture, normal pig epithelium)

ты реакции были отрицательными, что свидетельствует о специфичности метода (рис.).

Предел детекции определяли с использованием серии 10-кратных разведений сенекавируса штамма СА-01-131395. Исходный титр вируса составлял 6 lg ТЦД₅₀/мл. Предельное разведение, в котором обнаруживали вирус, содержало его в титре 10 ТЦД₅₀/мл.

Значения Ct для всех разведений находились в диапазоне от 12,2 до 31,14. Анализ данных с помощью программного обеспечения позволил построить стандартную кривую для этих разведений РНК и вычислить эффективность реакции, которая составила 92,3%.

При определении сходимости исследовали один и тот же образец в 10 повторностях, выполненных в одних и тех же условиях измерения (один прибор, один оператор, т. е. в условиях повторяемости). Учитывали степень близости результатов последовательных измерений одной и той же пробы (величину Ct). Коэффициент вариации (С) рассчитывали по формуле:

$$C = \sigma / X_{cp} \times 100\%,$$

где X – величина порогового цикла, определяемого в ОТ-ПЦР-РВ;

σ – среднее квадратичное отклонение, которое определяется по формуле $\sigma = (X_{\max} - X_{\min}) / K$, где K – коэффициент из таблицы С. И. Ермолаева; для 10 повторностей K = 3,08 [24, 25].

Получили $\sigma = (12,83 - 12,12) / 3,08 = 0,231$. Рассчитанное количественное значение коэффициента вариации составило $C = 0,231 / 12,444 \times 100\% = 1,86\%$ (табл.).

При определении воспроизводимости также исследовали один и тот же образец в 10 повторностях, выполненных при измененных условиях измерения: 1) одним исследователем в параллельных исследованиях в течение разного времени (10 дней) и 2) двумя

разными исследователями в параллельных исследованиях (в 10 повторях):

1) $\sigma = (13,37 - 12,11) / 3,74 = 0,337$ (для 20 повторностей $K = 3,74$),

$C = 0,337 / 12,483 \times 100\% = 2,70\%$;

2) $\sigma = (13,82 - 12,11) / 3,74 = 0,457$,

$C = 0,457 / 12,643 \times 100\% = 3,61\%$.

Рассчитанное количественное значение коэффициента вариации составило 2,70% при исследовании одним оператором в разные дни, и 3,61% – при исследовании разными операторами (табл.).

Полученные значения коэффициента вариации (менее 10%) показывают, что изменчивость вариационного ряда незначительна и результаты однородны.

Таким образом, было установлено, что ОТ-ПЦР-РВ по своим характеристикам отвечает требованиям, предъявляемым к качественным методам измерений/испытаний и может применяться в диагностических исследованиях.

По результатам валидации метода были разработаны методические указания по обнаружению сенекавируса с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, которые применялись в дальнейшем для диагностики сенекавирусной инфекции в России.

В период с 2018 по 2020 г. с использованием ОТ-ПЦР-РВ на наличие генома сенекавируса было исследовано 1577 образцов патологического материала от свиней из 112 хозяйств 37 регионов РФ. Для анализа использовали весь имеющийся биологический материал от свиней различных возрастных групп: от эмбрионов до взрослых животных. Исследованиями были охвачены любые клинические проявления у свиней. Например, животные с везикулярными поражениями кожи и слизистых оболочек, неврологическими симптомами, кишечной патологией, респираторными и репродуктивными нарушениями, все случаи внезапного падежа, а также материал от клинически здоровых животных. Исследованиям были подвергнуты любые органы и ткани

животных, а также биологические жидкости. Ткани от свиней с везикулярными поражениями (афты, везикулы, папулы, пустулы) были взяты из очагов ящура.

Как видно на рисунке, в пробах полевого материала от поросят (мозге и суставах) при обнаружении сенекавируса наблюдается положительный сигнал флуоресценции.

Сенекавирус не был выявлен ни в эпителиальных тканях, ни в пробах паренхиматозных органов, ни в биологических жидкостях свиней, а все случаи везикулярных поражений у свиней в РФ в 2019 г. являлись следствием инфицирования вирусом ящура.

Однако в одном из хозяйств Челябинской области сенекавирус был обнаружен у поросят с неврологической симптоматикой и артритами. Судить о роли сенекавируса А в данной патологии достаточно трудно, так как в этом материале были обнаружены также бактериальные патогены, а именно *Streptococcus suis* [26]. Есть предположение, что на данный свинокомплекс сенекавирус попал с привезенным из Канады племенным молодняком в 2015 г. Вполне вероятно, что вирус клинически никак себя не проявлял.

В заключение можно сказать, что данное исследование представляет собой первое сообщение о заражении сенекавирусом свиней в России. Везикулярные заболевания у сельскохозяйственных животных являются клинически, экономически и эпидемиологически значимыми. А сенекавирус может выступать новым возбудителем, потенцирующим проявления везикулярной болезни. Следовательно, выявление данного инфекционного агента необходимо включить в дифференциальную диагностику классических вирусных везикулярных заболеваний, хотя инфекционное заболевание, обусловленное сенекавирусом, имеет более легкое течение и не оказывает большого экономического воздействия. Несмотря на единичный случай выявления сенекавируса в России, существует угроза его заноса из соседних стран и, следовательно, возникает необходимость изучения и контроля сенекавирусной инфекции.

ВЫВОДЫ

1. Оптимизирован метод обнаружения сенекавируса с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Показано отсутствие перекрестных реакций с другими тестируемыми вирусами. Определен предел детекции сенекавируса (титр 10 ТЦД₅₀/мл). Определены основные валидационные характеристики данного метода: сходимость (коэффициент вариации – 1,86%) и воспроизводимость (коэффициент вариации – 2,70 и 3,61%). Дана оценка эффективности амплификации – 92,3%. Показано, что разработанный метод соответствует критериям, предъявляемым к качественным лабораторным методам исследования, и может применяться для лабораторной диагностики сенекавирусной инфекции.

2. На основе оптимизированного метода разработаны методические указания по обнаружению сенекавируса с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, которые могут применяться для диагностики сенекавирусной инфекции в животноводческих хозяйствах России.

3. В период с 2018 по 2020 г. с использованием разработанного метода проведен анализ биологического материала от свиней разных возрастных групп

Таблица

Значения порогового цикла при 30 повторях и коэффициенты вариации ОТ-ПЦР-РВ

Table

Real-time RT-PCR: Ct-values for 30 retests and coefficient of variance

Внутри одного прогона		На другом приборе		Другим оператором	
№ повтора	Ct	№ повтора	Ct	№ повтора	Ct
1	12,83	1	12,42	1	12,74
2	12,12	2	12,78	2	12,12
3	12,35	3	12,12	3	12,36
4	12,45	4	12,35	4	13,82
5	12,47	5	12,54	5	12,81
6	12,24	6	12,98	6	12,52
7	12,63	7	13,37	7	12,43
8	12,47	8	12,11	8	12,61
9	12,74	9	12,24	9	13,72
10	12,14	10	12,31	10	12,50
C = 1,86					
C = 2,70					
		C = 3,61			

на наличие сенекавируса на свиноккомплексах, расположенных на территории РФ. Исследовано 1577 образцов из 112 хозяйств 37 регионов России. Искомый инфекционный агент обнаружен в одном из хозяйств Уральского федерального округа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Leme R. A., Oliveira T. E., Alcântara B. K., Headley S. A., Alfieri A. F., Yang M., Alfieri A. A. Clinical manifestations of Senecavirus A infection in neonatal pigs, Brazil, 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22 (7): 1238–1241. DOI: 10.3201/eid2207.151583.
- Hales L. M., Knowles N. J., Reddy P. S., Xu L., Hay C., Hallenbeck P. L. Complete genome sequence analysis of Seneca Valley virus-001, a novel oncolytic picornavirus. *J. Gen. Virol.* 2008; 89 (Pt 5): 1265–1275. DOI: 10.1099/vir.0.83570-0.
- Laguardia-Nascimento M., Gasparini M. R., Sales É. B., Rivetti A. V. Jr, Sousa N. M., Oliveira A. M., et al. Molecular epidemiology of senecavirus A associated with vesicular disease in pigs in Brazil. *Vet. J.* 2016; 216: 207–209. DOI: 10.1016/j.tvjl.2016.08.013.
- Leedom Larson K. R., Lambert T., Killoran K. Senecavirus A. Swine Health Information Center and Center for Food Security and Public Health. 2017. Режим доступа: <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf/shic-fact-sheet-senecavirus-a>.
- Leme R. A., Oliveira T. E. S., Alfieri A. F., Headley S. A., Alfieri A. A. Pathological, immunohistochemical and molecular findings associated with Senecavirus A-induced lesions in neonatal piglets. *J. Comp. Pathol.* 2016; 155 (2–3): 145–155. DOI: 10.1016/j.jcpa.2016.06.011.
- Knowles N. J., Hallenbeck P. A new picornavirus is most closely related to cardioviruses. *EUROPIC 2005: XIII Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses (23–29 May 2005, Lunteren, The Netherlands)*. 2005; Abstract A14: 23–29.
- Pasma T., Davidson S., Shaw S. L. Idiopathic vesicular disease in swine in Manitoba. *Can. Vet. J.* 2008; 49 (1): 84–85. PMID: 18320985.
- Singh K., Corner S., Clark S. G., Scherba G., Fredrickson R. Seneca Valley virus and vesicular lesions in a pig with idiopathic vesicular disease. *J. Vet. Sci. Technol.* 2012; 3 (6):123. DOI: 10.4172/2157-7579.1000123.
- Chen P., Yang F., Cao W., Liu H., Zhang K., Liu X., et al. The distribution of different clades of Seneca Valley viruses in Guangdong Province, China. *Viol. Sin.* 2018; 33 (5): 394–401. DOI: 10.1007/s12250-018-0056-8.
- Sun Y., Cheng J., Wu R. T., Wu Z. X., Chen J. W., Luo Y., et al. Phylogenetic and genome analysis of 17 novel Senecavirus A isolates in Guangdong Province, 2017. *Front. Vet. Sci.* 2018; 5:314. DOI: 10.3389/fvets.2018.00314.
- Wang Z., Zhang X., Yan R., Yang P., Wu Y., Yang D., Bian C., Zhao J. Emergence of a novel recombinant Seneca Valley virus in Central China, 2018. *Emerg. Microbes. Infect.* 2018; 7 (1):180. DOI: 10.1038/s41426-018-0183-1.
- Vannucci F. A., Linhares D. C., Barcellos D. E., Lam H. C., Collins J., Marthaler D. Identification and complete genome of Seneca Valley virus in vesicular fluid and sera of pigs affected with idiopathic vesicular disease, Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2015; 62 (6): 589–593. DOI: 10.1111/tbed.12410.
- Leme R. A., Miyabe F. M., Dall Agnol A. M., Alfieri A. F., Alfieri A. A. A new wave of Seneca Valley virus outbreaks in Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019; 66 (3): 1101–1104. DOI: 10.1111/tbed.13151.
- Leme R. A., Miyabe F. M., Dall Agnol A. M., Alfieri A. F., Alfieri A. A. Seneca Valley virus RNA detection in pig feed and feed ingredients in Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019; 66 (4): 1449–1453. DOI: 10.1111/tbed.13215.
- Sun D., Vannucci F., Knutson T. P., Corzo C., Marthaler D. G. Emergence and whole-genome sequence of Senecavirus A in Colombia. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (5): 1346–1349. DOI: 10.1111/tbed.12669.
- Saeng-Chuto K., Rodtian P., Temeeyasen G., Wegner M., Nilubol D. The first detection of Senecavirus A in pigs in Thailand, 2016. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (1): 285–288. DOI: 10.1111/tbed.12654.
- Arzt J., Bertram M. R., Vu L. T., Pauszek S. J., Hartwig E. J., Smoliga G. R., et al. First detection and genome sequence of Senecavirus A in Vietnam. *Microbiol. Resour. Announc.* 2019; 8 (3):e01247-18. DOI: 10.1128/MRA.01247-18.
- Fowler V. L., Ransburgh R. H., Poulsen E. G., Wadsworth J., King D. P., Mioulet V., et al. Development of a novel real-time RT-PCR assay to detect Seneca Valley virus-1 associated with emerging cases of vesicular disease in pigs. *J. Virol. Methods.* 2017; 239: 34–37. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.10.012.
- Liu C., Li X., Liang L., Li J., Cui S. Isolation and phylogenetic analysis of an emerging Senecavirus A in China, 2017. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 68: 77–83. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.12.009.
- Zhang J., Piñeyro P., Chen Q., Zheng Y., Li G., Rademacher C., et al. Genome Sequences of Senecavirus A from Recent Idiopathic Vesicular Disease Outbreaks in U.S. Swine. *Genome. Announc.* 2015; 3 (6):e01270-15. DOI: 10.1128/genomeA.01270-15.

- Montiel N., Buckley A., Guo B., Kulshreshtha V., VanGeelen A., Hoang H., et al. Vesicular Disease in 9-Week-Old Pigs Experimentally Infected with Senecavirus A. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22(7): 1246–1248. DOI: 10.3201/eid2207.151863.
- Wu Q., Zhao X., Bai Y., Sun B., Xie Q., Ma J. The first identification and complete genome of Senecavirus A affecting pig with idiopathic vesicular disease in China. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (5): 1633–1640. DOI: 10.1111/tbed.12557.
- Грибанов О. Г., Щербаков А. В., Перевозчикова Н. А., Гусев А. А. Использование аэросила А-300 и фильтров GF/F (GF/C) для очистки фрагментов ДНК, ДНК-плазмид и РНК. *Биохимия.* 1996; 61 (6): 1064–1070. Режим доступа: https://biochemistry.moscow.com/ru/archive/1996/61-06-1064/#_pdf.
- Носырев П., Носырева М., Рассказова Т., Корнеева Н. Валидация аналитических методик: теория и практика (часть 1). *Ремедиум.* 2003; 10: 69–71. eLIBRARY ID: 18345770.
- Поляков И. З., Соколова Н. С. Практическое пособие по медицинской статистике. Л.: Медицина; 1975. 151 с.
- Бирюченкова М. В., Тимина А. М. Разработка методов обнаружения генома *Streptococcus suis* на основе полимеразной цепной реакции. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных.* 2017; 15: 70–81. eLIBRARY ID: 35138112.

REFERENCES

- Leme R. A., Oliveira T. E., Alcântara B. K., Headley S. A., Alfieri A. F., Yang M., Alfieri A. A. Clinical manifestations of Senecavirus A infection in neonatal pigs, Brazil, 2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22 (7): 1238–1241. DOI: 10.3201/eid2207.151583.
- Hales L. M., Knowles N. J., Reddy P. S., Xu L., Hay C., Hallenbeck P. L. Complete genome sequence analysis of Seneca Valley virus-001, a novel oncolytic picornavirus. *J. Gen. Virol.* 2008; 89 (Pt 5): 1265–1275. DOI: 10.1099/vir.0.83570-0.
- Laguardia-Nascimento M., Gasparini M. R., Sales É. B., Rivetti A. V. Jr, Sousa N. M., Oliveira A. M., et al. Molecular epidemiology of senecavirus A associated with vesicular disease in pigs in Brazil. *Vet. J.* 2016; 216: 207–209. DOI: 10.1016/j.tvjl.2016.08.013.
- Leedom Larson K. R., Lambert T., Killoran K. Senecavirus A. Swine Health Information Center and Center for Food Security and Public Health. 2017. Available at: <http://www.cfsph.iastate.edu/pdf/shic-factsheet-senecavirus-a>.
- Leme R. A., Oliveira T. E. S., Alfieri A. F., Headley S. A., Alfieri A. A. Pathological, immunohistochemical and molecular findings associated with Senecavirus A-induced lesions in neonatal piglets. *J. Comp. Pathol.* 2016; 155 (2–3): 145–155. DOI: 10.1016/j.jcpa.2016.06.011.
- Knowles N. J., Hallenbeck P. A new picornavirus is most closely related to cardioviruses. *EUROPIC 2005: XIII Meeting of the European Study Group on the Molecular Biology of Picornaviruses (23–29 May 2005, Lunteren, The Netherlands)*. 2005; Abstract A14: 23–29.
- Pasma T., Davidson S., Shaw S. L. Idiopathic vesicular disease in swine in Manitoba. *Can. Vet. J.* 2008; 49 (1): 84–85. PMID: 18320985.
- Singh K., Corner S., Clark S. G., Scherba G., Fredrickson R. Seneca Valley virus and vesicular lesions in a pig with idiopathic vesicular disease. *J. Vet. Sci. Technol.* 2012; 3 (6):123. DOI: 10.4172/2157-7579.1000123.
- Chen P., Yang F., Cao W., Liu H., Zhang K., Liu X., et al. The distribution of different clades of Seneca Valley viruses in Guangdong Province, China. *Viol. Sin.* 2018; 33 (5): 394–401. DOI: 10.1007/s12250-018-0056-8.
- Sun Y., Cheng J., Wu R. T., Wu Z. X., Chen J. W., Luo Y., et al. Phylogenetic and genome analysis of 17 novel Senecavirus A isolates in Guangdong Province, 2017. *Front. Vet. Sci.* 2018; 5:314. DOI: 10.3389/fvets.2018.00314.
- Wang Z., Zhang X., Yan R., Yang P., Wu Y., Yang D., Bian C., Zhao J. Emergence of a novel recombinant Seneca Valley virus in Central China, 2018. *Emerg. Microbes. Infect.* 2018; 7 (1):180. DOI: 10.1038/s41426-018-0183-1.
- Vannucci F. A., Linhares D. C., Barcellos D. E., Lam H. C., Collins J., Marthaler D. Identification and complete genome of Seneca Valley virus in vesicular fluid and sera of pigs affected with idiopathic vesicular disease, Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2015; 62 (6): 589–593. DOI: 10.1111/tbed.12410.
- Leme R. A., Miyabe F. M., Dall Agnol A. M., Alfieri A. F., Alfieri A. A. A new wave of Seneca Valley virus outbreaks in Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019; 66 (3): 1101–1104. DOI: 10.1111/tbed.13151.
- Leme R. A., Miyabe F. M., Dall Agnol A. M., Alfieri A. F., Alfieri A. A. Seneca Valley virus RNA detection in pig feed and feed ingredients in Brazil. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019; 66 (4): 1449–1453. DOI: 10.1111/tbed.13215.
- Sun D., Vannucci F., Knutson T. P., Corzo C., Marthaler D. G. Emergence and whole-genome sequence of Senecavirus A in Colombia. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (5): 1346–1349. DOI: 10.1111/tbed.12669.
- Saeng-Chuto K., Rodtian P., Temeeyasen G., Wegner M., Nilubol D. The first detection of Senecavirus A in pigs in Thailand, 2016. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (1): 285–288. DOI: 10.1111/tbed.12654.
- Arzt J., Bertram M. R., Vu L. T., Pauszek S. J., Hartwig E. J., Smoliga G. R., et al. First detection and genome sequence of Senecavirus A in Vietnam. *Microbiol. Resour. Announc.* 2019; 8 (3):e01247-18. DOI: 10.1128/MRA.01247-18.
- Fowler V. L., Ransburgh R. H., Poulsen E. G., Wadsworth J., King D. P., Mioulet V., et al. Development of a novel real-time RT-PCR assay to detect Seneca Valley virus-1 associated with emerging cases of vesicular disease in pigs. *J. Virol. Methods.* 2017; 239: 34–37. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.10.012.
- Liu C., Li X., Liang L., Li J., Cui S. Isolation and phylogenetic analysis of an emerging Senecavirus A in China, 2017. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 68: 77–83. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.12.009.
- Zhang J., Piñeyro P., Chen Q., Zheng Y., Li G., Rademacher C., et al. Genome Sequences of Senecavirus A from Recent Idiopathic Vesicular Disease Outbreaks in U.S. Swine. *Genome. Announc.* 2015; 3 (6):e01270-15. DOI: 10.1128/genomeA.01270-15.

17. Arzt J., Bertram M. R., Vu L. T., Pauszek S. J., Hartwig E. J., Smoliga G. R., et al. First detection and genome sequence of Senecavirus A in Vietnam. *Microbiol. Resour. Announc.* 2019; 8 (3):e01247-18. DOI: 10.1128/MRA.01247-18.
18. Fowler V. L., Ransburgh R. H., Poulsen E. G., Wadsworth J., King D. P., Mioulet V., et al. Development of a novel real-time RT-PCR assay to detect Seneca Valley virus-1 associated with emerging cases of vesicular disease in pigs. *J. Virol. Methods.* 2017; 239: 34–37. DOI: 10.1016/j.jviromet.2016.10.012.
19. Liu C., Li X., Liang L., Li J., Cui S. Isolation and phylogenetic analysis of an emerging Senecavirus A in China, 2017. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 68: 77–83. DOI: 10.1016/j.meegid.2018.12.009.
20. Zhang J., Piñeyro P., Chen Q., Zheng Y., Li G., Rademacher C., et al. Genome sequences of Senecavirus A from recent idiopathic vesicular disease outbreaks in U.S. swine. *Genome Announc.* 2015; 3 (6):e01270-15. DOI: 10.1128/genomeA.01270-15.
21. Montiel N., Buckley A., Guo B., Kulshreshtha V., VanGeelen A., Hoang H., et al. Vesicular disease in 9-week-old pigs experimentally infected with Senecavirus A. *Emerg. Infect. Dis.* 2016; 22 (7): 1246–1248. DOI: 10.3201/eid2207.151863.
22. Wu Q., Zhao X., Bai Y., Sun B., Xie Q., Ma J. The first identification and complete genome of Senecavirus A affecting pig with idiopathic vesicular disease in China. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (5): 1633–1640. DOI: 10.1111/tbed.12557.
23. Gribanov O. G., Shcherbakov A. V., Perevozchikova N. A., Gusev A. A. The use of Aerosil A-300 and GF/F (GF/C) filters for purification of DNA fragments, plasmid DNA and RNA. *Biochemistry (Moscow)*. 1996; 61 (6): 1064–1070. Available at: https://biochemistry.moscow.com/ru/archive/1996/61-06-1064/#_pdf. (in Russ.)
24. Nosyrev P., Nosyreva M., Rasskazova T., Korneeva N. Validatsiya analiticheskikh metodik: teoriya i praktika (chast' 1) = Validation of analytical methods: theory and practice (Part 1). *Remedium*. 2003; 10: 69–71. eLIBRARY ID: 18345770. (in Russ.)
25. Polyakov I. Z., Sokolova N. S. Practical Guide for medical statistics. Leningrad: Meditsina; 1975. 151 p. (in Russ.)
26. Biryuchenkova M. V., Timina A. M. Development of methods for *Streptococcus suis* genome detection based on polymerase chain reaction. *Proceedings of the Federal Center for Animal Health*. 2017; 15: 70–81. eLIBRARY ID: 35138112. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 18.08.2022

Поступила после рецензирования / Revised 17.10.2022

Принята к публикации / Accepted 11.11.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Тиманов Максим Викторович, ведущий ветеринарный врач референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Тимина Анна Михайловна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Бирюченкова Марина Вячеславовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Maksim V. Timanov, Leading Veterinarian, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Anna M. Timina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Highly Dangerous Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Marina V. Biryuchenkova, Candidate of Science (Biology), Researcher, Laboratory for Highly Dangerous Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.



Африканская чума свиней в Приморском крае: эпизоотическая ситуация и молекулярно-биологические свойства изолята, выделенного из трубчатой кости от дикого кабана

А. Р. Шотин¹, А. С. Иголкин², Али Мазлум³, И. В. Шевченко⁴, Н. С. Бардина⁵, Е. О. Морозова⁶, А. А. Шевцов⁷

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

¹ <https://orcid.org/0000-0001-9884-1841>, e-mail: shotin@arriah.ru

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

³ <https://orcid.org/0000-0002-5982-8393>, e-mail: mazlum@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-6482-7814>, e-mail: shvchenko@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-6620-8838>, e-mail: bardina@arriah.ru

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

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

РЕЗЮМЕ

Для успешного искоренения африканской чумы свиней, построения эффективных программ надзора и контроля за болезнью, поиска перспективных геномных маркеров для создания профилактических препаратов, реализации стратегии по дифференциации инфицированных и вакцинированных животных, а также кластеризации изолятов необходимо продолжать изучение эпизоотической ситуации и молекулярно-биологических свойств современных изолятов вируса африканской чумы свиней, выделенных на приграничных территориях Российской Федерации. Ретроспективный анализ некоторых эпизоотологических данных в отношении эпизоотии африканской чумы свиней и сравнительный генетический анализ изолятов, циркулирующих на территории Дальневосточного федерального округа, позволили предположить пути заноса и распространения возбудителя, а также определить сезонность регистрации инфекции в Приморском крае. Отмечена циркуляция двух субгенотипов вируса африканской чумы свиней (IGR-I и IGR-II), определенных по интергенному региону I73R/I329L, на территории изучаемого края в течение первых месяцев неблагополучия по заболеванию. Исследования по изучению биологических свойств изолята вируса африканской чумы свиней ASFV/Primorsky 19/WB-6723, выделенного из трубчатой кости от павшего дикого кабана на территории Приморского края, позволили охарактеризовать его как высоковирулентный, способный вызывать от сверхострой до подострой формы течения инфекции с гибелью до 100% зараженных животных. Инкубационный период и длительность течения болезни у экспериментально инфицированных свиней составили от 4 до 6 и от 3 до 5 дней после заражения соответственно. Геном вируса африканской чумы свиней при использовании метода полимеразной цепной реакции в реальном времени детектировали в пробах крови, полученной от зараженных животных на 5–8-й день после инфицирования. Специфические антитела в образцах сыворотки крови обнаружены не были. Подтверждена необходимость проведения дальнейшего изучения молекулярно-биологических свойств современных изолятов вируса африканской чумы свиней. Во избежание продолжения эпизоотии и ухудшения сложившейся ситуации требуется корректировка применяемых подходов к осуществлению эпизоотического надзора и контроля болезни.

Ключевые слова: африканская чума свиней, Приморский край, эпизоотология, молекулярно-генетический анализ, биологическая проба

Благодарности: Исследование выполнено за счет средств гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации на реализацию отдельных мероприятий Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1054).

Для цитирования: Шотин А. Р., Иголкин А. С., Мазлум Али, Шевченко И. В., Бардина Н. С., Морозова Е. О., Шевцов А. А. Африканская чума свиней в Приморском крае: эпизоотическая ситуация и молекулярно-биологические свойства изолята, выделенного из трубчатой кости от дикого кабана. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 347–358. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-347-358.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

African swine fever in the Primorsky Krai: disease situation and molecular and biological properties of the isolate recovered from a wild boar long bone

A. R. Shotin¹, A. S. Igolkin², Ali Mazloun³, I. V. Shevchenko⁴, N. S. Bardina⁵, E. O. Morozova⁶, A. A. Shevtsov⁷

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

© Шотин А. Р., Иголкин А. С., Мазлум Али, Шевченко И. В., Бардина Н. С., Морозова Е. О., Шевцов А. А., 2022

¹ <https://orcid.org/0000-0001-9884-1841>, e-mail: shotin@arriah.ru

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

³ <https://orcid.org/0000-0002-5982-8393>, e-mail: mazlum@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0001-6482-7814>, e-mail: shevchenko@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-6620-8838>, e-mail: bardina@arriah.ru

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

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

SUMMARY

It is necessary to continue the analysis of the situation and molecular and biological properties of the current African swine fever virus isolates, recovered in the Russian border territories to cover the following tasks: eradication of African swine fever; development of effective disease surveillance and control programs; search for promising genome markers for the vaccine development; implementation of the differentiation strategy between vaccinated and non-vaccinated animals; and clustering of the isolates. The post-hoc analysis of some ASF epidemiological data and comparative genetic analysis of isolates circulating in the Far East Federal District suggested the agent introduction and spread routes, as well as the seasonality of the infection occurrence in the Primorsky Krai. It was established, that two ASFV subgenotypes (IGR-I and IGR-II), differentiated by intergenic region I73R/I329L, circulated in the region under study during the first months post infection. Analysis of biological properties of ASFV/Primorsky 19/WB-6723 isolate recovered from the long bone of a dead wild boar in the Primorsky Krai suggested that the isolate is highly virulent, able to cause peracute to subacute disease and up to 100% mortality among infected animals. The incubation period and duration of the disease course in experimentally infected pigs were 4–6 and 3–5 days post infection, respectively. The ASFV genome was detected in blood samples collected from infected pigs on 5–8 days post infection by real-time polymerase chain reaction. Specific antibodies in blood samples were not detected. The need in further research of molecular and biological properties of current ASFV isolates was reaffirmed. To prevent the continuation of the epizooty and deterioration of the current situation the approaches to the disease surveillance and control need to be modified.

Keywords: African swine fever, Primorsky Krai, epizootology, molecular and genetic analysis, bioassay

Acknowledgements: The study was carried out at the expense of the grant from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for the implementation of certain activities of the Federal Scientific and Technical Program for the Development of Genetic Technologies for 2019–2027 (Agreement No. 075-15-2021-1054).

For citation: Shotin A. R., Igolkin A. S., Mazloun Ali, Shevchenko I. V., Bardina N. S., Morozova E. O., Shevtsov A. A. African swine fever in the Primorsky Krai: disease situation and molecular and biological properties of the isolate recovered from a wild boar long bone. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 347–358. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-347-358.

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

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

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) – высоколетальная контагиозная болезнь домашних свиней и диких кабанов всех возрастов и пород [1, 2].

Возбудитель АЧС отнесен к отдельному семейству *Asfarviridae*, имеет 10 серотипов, идентифицированных в реакции задержки гемадсорбции, и 24 генотипа – на основе секвенирования вариабельного С-конца гена B646L, кодирующего капсидный белок vp72 [3].

Ввиду широкого распространения болезни внутри стран и регионов возникла потребность в разделении близкородственных изолятов, что достигается с помощью использования других, менее консервативных вирусных генов и интергенных регионов (IGR), одним из которых является IGR I73R/I329L.

Современный виток развития эпизоотия АЧС получила с момента заноса возбудителя (вируса АЧС II генотипа) через Грузию на Евразийский континент в 2007 г., где она продолжается и в настоящее время, нанося серьезный экономический ущерб свиноводческому и смежным секторам, включая косвенные издержки, связанные с торговыми ограничениями [4].

На сегодняшний день на территориях неблагополучных стран широко распространены варианты вируса АЧС II генотипа, которые вызывают преимущественно острую форму течения болезни с гибелью до 100% зараженных животных [4, 5].

Эпизоотия АЧС в Дальневосточном федеральном округе (ДФО) Российской Федерации началась спустя год после первой официально нотифицированной в 2018 г. вспышки болезни в Китайской Народной Республике (КНР) [6]. Первые случаи АЧС в Приморском крае были зарегистрированы в Пограничном районе, недалеко от границы с КНР. При этом за последующий месяц о новых случаях сообщили также Амурская и Еврейская автономная (ЕАО) области, граничащие с Китаем [6].

Согласно работам С. В. Тереховой и соавт. [7, 8] и Н. В. Момот и соавт. [9, 10], посвященным распространению АЧС в Приморском крае, в качестве причины заноса болезни в регион указывается миграция инфицированных диких кабанов из КНР, в то время как широкому распространению инфекции внутри региона способствовал уже антропогенный фактор, о чем свидетельствует распространение АЧС вдоль транспортных магистралей, а проникновение возбудителя в популяцию домашних свиней в большинстве случаев было вызвано нарушениями правил содержания животных (кормление необеззараженными боенскими отходами, свободный выгул и т. д.). Однако в работе О. I. Zakharova et al. [11] подтверждена гипотеза о множественных путях распространения АЧС в регионе, а проведенный авторами пространственно-временной анализ не выявил фактов передачи инфекции из одной популяции в другую.

Отечественными учеными начиная с момента заноса возбудителя АЧС на территорию Евразийского континента в 2007 г. выделено и изучено множество изолятов вируса, полученных из различных регионов РФ от домашних и диких свиней, которые различаются по своим биологическим свойствам. На сегодняшний день известны как высоковирулентные, так и варианты вируса со сниженной вирулентностью, вызывающие в том числе бессимптомную форму течения болезни [12–19].

Результаты изучения эпизоотической ситуации и молекулярно-биологических свойств современных изолятов вируса АЧС, выделенных на приграничных территориях РФ, могут быть использованы при разработке эффективных программ надзора и контроля за болезнью, а также поиске перспективных геномных маркеров для создания профилактических препаратов, реализации DIVA-стратегии и кластеризации изолятов. Из чего можно сделать вывод, что для успешного искоренения АЧС необходимо продолжать всестороннее изучение циркулирующих вариантов возбудителя.

Целью работы являлось проведение ретроспективного анализа некоторых эпизоотологических данных в отношении циркуляции АЧС на территории Приморского края, а также изучение молекулярно-биологических свойств изолята вируса АЧС ASFV/Primorsky 19/WB-6723, выделенного из трубчатой кости от павшего дикого кабана в изучаемом регионе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эпизоотологический анализ. Данные об эпизоотической ситуации и результатах лабораторных исследований получены из официальных источников (Всемирная организация здравоохранения животных, ФГБУ «Центр ветеринарии», информационно-аналитический центр ФГБУ «ВНИИЗЖ»). Информация об эпизоотической ситуации в других странах и регионах России, а также ее анализ получены из открытых источников.

Систематизированные данные и ретроспективный анализ развития эпизоотии в Приморском крае выражали графически и картографически.

Молекулярно-генетический анализ. Библиотека секвенирования была создана для образца вируса АЧС ASFV/Primorsky 19/WB-6723 с использованием набора для подготовки библиотеки ДНК Nextera XT (Illumina, США). Секвенирование нового поколения (NGS) было выполнено с использованием набора реагентов MiSeq v2 (с 2 × 250 п. н. секвенированием парных концов) на настольном секвенаторе MiSeq (Illumina, США). Анализ и выравнивание на основе генома референтного штамма Georgia 2007/1 (FR682468.2_ASFV/Georgia 2007/1) провели с использованием программы CLC Genomics Workbench v9 (Qiagen, www.clcbio.com). Открытые рамки считывания определяли с помощью GATU. Последовательность генома изолята вируса АЧС ASFV/Primorsky 19/WB-6723 опубликована в международной базе данных GenBank под номером MW306191. Определение однонуклеотидных полиморфизмов и сравнение изолятов проводили с помощью программы BioEdit 7.1.

Последовательности использованных в работе генов изолятов вируса АЧС из других стран и регионов были получены из базы данных GenBank, а также работ А. К. Сибгатулловой, М. Е. Власова и Д. А. Луниной [20, 21].

Биологическая проба. Постановку биологической пробы проводили на домашних свиньях, завезенных из благополучного по основным инфекционным болез-

ням свиней хозяйства Владимирской области, при этом строго соблюдали межгосударственные стандарты по содержанию и уходу за лабораторными животными, принятые Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также требования Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

В опыте использовали свиней крупной белой породы массой 15–20 кг в количестве 7 гол. Шесть из них (№ 1–6) заражали восстановленной вирусосодержащей суспензией образца изолята ASFV/Primorsky 19/WB-6723 внутримышечно в дозе 10 ГД₅₀/гол., а одно животное (№ 7) оставляли совместно с инфицированными свиньями для оценки возможного контактного заражения.

Использованный для заражения изолят вируса АЧС ASFV/Primorsky 19/WB-6723 был выделен из трубчатой кости от павшего дикого кабана, обнаруженного 06.08.2019 в лесном массиве на территории Пограничного района Приморского края.

Животные содержались изолированно в условиях виварного комплекса ФГБУ «ВНИИЗЖ», предназначенного для работы с возбудителями II–IV групп патогенности.

Постановку биологической пробы, а также оценку клинических признаков и патолого-анатомических изменений проводили согласно методическим рекомендациям и указаниям ФГБУ «ВНИИЗЖ» [22, 23].

Наблюдение за животными осуществляли ежедневно, проводя визуальный контроль проявления клинических признаков и измеряя (ректально) температуру тела каждой свиньи. Отбор проб крови от животных проводили на 0, 5, 8, 11 и 14-й день после заражения (д. п. з.). Полученные образцы исследовали параллельно методами полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ), твердофазного иммуноферментного анализа (ТФ-ИФА) и иммунопероксидазного метода (ИПМ).

Выявление специфических антител к вирусу АЧС проводили с использованием тест-систем для постановки ТФ-ИФА: INgezim PPA Compac (Ingenasa, Испания) и ID Screen® African Swine Fever Indirect (IDvet, Франция) в соответствии с инструкциями производителей, а также с помощью ИПМ, руководствуясь методическими рекомендациями ФГБУ «ВНИИЗЖ» [24].

Обнаружение генома вируса АЧС проводили методом ПЦР-РВ с использованием тест-системы «АЧС» (ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) согласно инструкции производителя.

Обработку данных и построение графиков проводили с использованием программных пакетов Statistica (<http://statsoft.ru>), GraphPad Prism 8.0 (<https://www.graphpad.com>) и Microsoft Excel (<https://www.microsoft.com/ru-ru>).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эпизоотологический анализ. Вплоть до середины 2019 г. неблагополучная по АЧС зона на территории РФ ограничивалась европейской частью страны (за исключением спорадических, выносных случаев).

Первая вспышка АЧС в ДФО зарегистрирована 30.07.2019 в Приморском крае (рис. 1). Очаг выявили среди свиней в крестьянском (фермерском) хозяйстве (КФХ) пгт Пограничный Пограничного района

Приморского края, расположенном на расстоянии 14 км от государственной границы РФ с КНР, а также 90 и 490 км от ближайших очагов среди домашних (11.12.2018) и диких (14.11.2018) свиней в КНР соответственно. Следующими неблагополучными регионами в ДФО за вышеупомянутым Приморским краем стали Амурская область (05.08.2019) и ЕАО (28.08.2019).

В течение первого месяца неблагополучия в Приморском крае были выявлены еще 8 новых вспышек болезни (5 среди домашних свиней и 3 в популяции дикого кабана) на территории трех районов региона на расстоянии до 315 км от места первоначально обнаружения. Первые случаи АЧС в дикой фауне (01–06.08.2019) регистрировали при исследовании образцов от кабанов, павших на расстоянии 10–60 км от государственной границы с КНР. При этом 07.08.2019 на расстоянии 30 км от ближайшего места выявления АЧС в популяции кабанов (06.08.2019) возбудитель был обнаружен уже в образце от отстрелянного кабана.

С момента начала эпизоотии в регионе и до сентября 2021 г. в Приморском крае официально зарегистрированы 122 очага болезни (66 в популяции домашних свиней, 56 среди диких кабанов). Все случаи инфекции зафиксированы на основании положительных результатов ПЦР-исследования. При этом лабораторные исследования образцов от диких кабанов на наличие специфических антител в регионе не проводились.

Как видно на рисунке 2, динамика регистрации АЧС на территории края за исследуемый период имела волнообразный характер. Ее можно условно разделить на три временных периода (№ 1: 07.2019–02.2020; № 2: 06.2020–03.2021; № 3: 04.2021–09.2021), каждый из которых начинался с преобладания и увеличения числа случаев нотификации болезни среди домашних

свиней с последующим спадом и началом регистрации вспышек в популяции кабанов.

Согласно данным срочных отчетов и публикациям, вспышки среди домашних свиней возникали преимущественно в хозяйствах малых форм собственности (КФХ и ЛПХ – личные подсобные хозяйства), насчитывающих до 100 гол. восприимчивых к АЧС животных. В качестве причин возникновения болезни названы: кормление инфицированными вирусом пищевыми и боенскими отходами, которые применялись как основа рациона и не были подвергнуты должной термической обработке; свободный выпас на территориях лесных массивов и, как следствие, их контакт с дикими кабанями; а также непреднамеренный механический занос возбудителя человеком [7, 8, 10].

За вышеуказанные временные периоды (№ 1, 2 и 3) АЧС нотифицировали в 10, 14 и 1 ранее благополучных районах Приморского края соответственно.

Представленные на рисунке 3 данные демонстрируют, что максимальное вовлечение новых районов в эпизоотию произошло в начале первого (07.2019–12.2019) и второго (06.2020–12.2020) периодов, в течение которых АЧС первично регистрировали на территории 12 районов в популяции домашних свиней, 2 районов в дикой фауне и однократно параллельно в двух популяциях. За вторые части периодов № 1 и 2 болезнь первично нотифицировали в 8 случаях в популяции кабанов и только в 2 случаях среди домашних свиней.

Всего за исследуемый период неблагополучными по АЧС стали 25 районов края (в т. ч. 22 среди домашних свиней и 22 в популяции кабанов). В среднем в каждом из районов нотифицировано $4,88 \pm 1,203$ (при 95%-м доверительном интервале) случаев болезни, при этом на территории 19 из них АЧС зарегистриро-

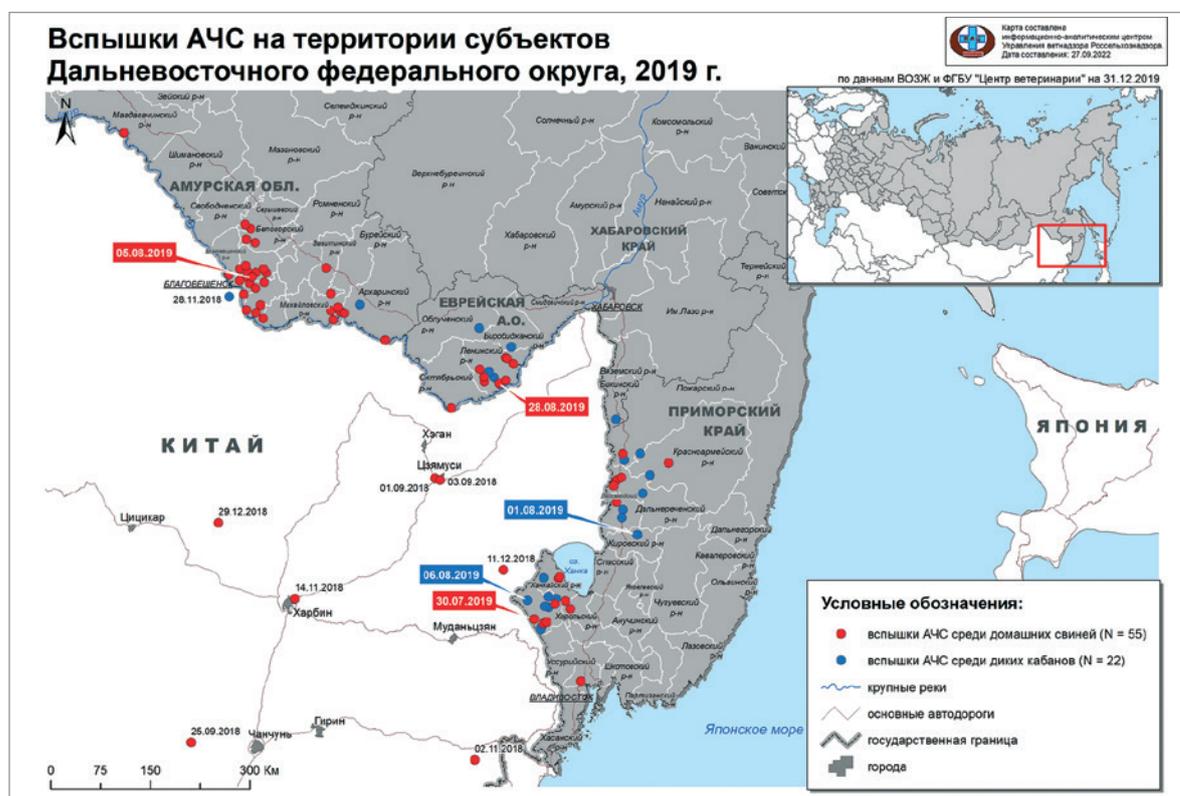


Рис. 1. Вспышки АЧС на территории субъектов ДФО на 31.12.2019

Fig. 1. ASF outbreaks in the Subjects of the Far East Federal District as of December 31, 2019

вана в обеих восприимчивых популяциях и только 6 – в какой-либо одной (Надеждинский и Спасский районы, а также Арсеньевский городской округ – в популяции домашних свиней; Ольгинский и Черниговский районы, а также Дальнегорский городской округ – среди диких кабанов). Максимальное число вспышек отмечено в Пограничном районе ($n = 12$).

На территории 8 районов болезнь регистрировали как среди павших, так и среди отстрелянных кабанов, в 11 районах – только среди павших, в 3 – исключительно среди отстрелянных животных. В 72% случаев положительный диагноз на АЧС был поставлен при лабораторном исследовании образцов от павших кабанов и в 28% – от отстрелянных.

В тушах павших кабанов АЧС обнаруживали на протяжении 10 месяцев года (за исключением апреля и мая), пики регистрации отмечены в июле – августе и ноябре, в то время как в пробах от отстрелянных кабанов – на протяжении 7 месяцев года (за исключением периода с апреля по июль и сентября), а пики пришлись на декабрь – январь и март.

Стоит отметить, что в период с июня по ноябрь инфекцию регистрировали преимущественно среди павших кабанов, затем с декабря по март происходило нарастание числа выявленных случаев болезни среди отстрелянных животных.

Среди домашних свиней пик регистрации АЧС пришелся на летне-осеннее время (июль – сентябрь) с максимальным числом вспышек в августе.

Молекулярно-генетический анализ. В предыдущей работе A. Mazloum et al. [25] представлены результаты генетического анализа изолята вируса АЧС ASFV/Primorsky 19/WB-6723, который показал, что его геном состоит из 189,263 п. н. и кодирует 189 открытых рамок считывания, по анализу С-конца гена В646L вирус относится к II генотипу, а по интергенному региону I73R/I329L – к IGR-II (рис. 4). Филогенетический анализ на основе полногеномной последовательности позволил объединить изучаемый изолят вируса АЧС в одну группу с изолятами из Китая и Польши, в то время как изоляты из Грузии (Georgia 2007/1 – референтный), Танзании (LR813622_Rukwa_Tanzania_2017), Центрального федерального округа РФ (ASFV/Ulyanovsk 19/WB-5699 и ASFV/Kabardino-Balkaria 19/WB-964) и Литвы (MK628478) были объединены в группу IGR-I.

Анализ IGR I73R/I329L показывает, что к субгенотипу II (IGR-II), несущему дополнительную вставку из 10 п. н. (GAATATATAG), помимо изолята вируса АЧС ASFV/Primorsky 19/WB-6723 относятся российские изоляты: Primorskiy 8954/19 (Приморский край), MT840353 Russia 2019 Amur/19.08.19 (Амурская область) и Ev. avt. reg 8951/19 (ЕАО) и разные изоляты из Польши, Европы и Китая. Однако в тех же регионах РФ в тот же период времени были обнаружены изоляты вируса АЧС, относящиеся к субгенотипу I (IGR-I): Primorskie Krai 26.09.2019 DP (Приморский край), Amurskaya 21.08.2019 DP и ASFV/Amur 19/WB-6905 (Амурская область). При этом вышеназванные варианты вируса АЧС распространены не только на территории РФ, но и в Китае.

Биологическая проба. Для оценки биологических свойств вируса АЧС, циркулирующего в Приморском крае, был выбран изолят ASFV/Primorsky 19/WB-6723. Схема эксперимента представлена в разделе «Материалы и методы» данной работы.

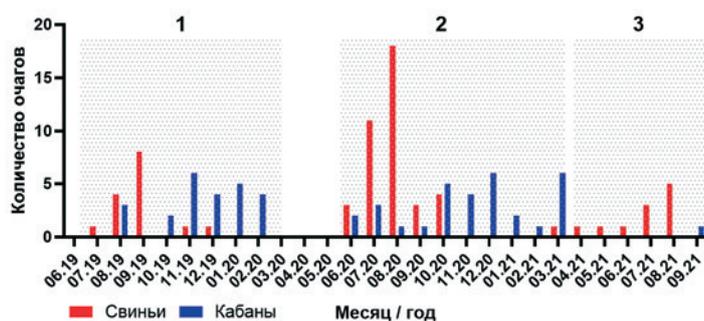


Рис. 2. Обнаружение АЧС в Приморском крае с июля 2019 по сентябрь 2021 г.

Номерами 1, 2, 3 отмечены три периода эпизоотии ($n = 122$)

Fig. 2. ASF reporting in the Primorsky Krai from July 2019 to September 2021.

Figures 1, 2, and 3 mean three epizootic periods ($n = 122$)

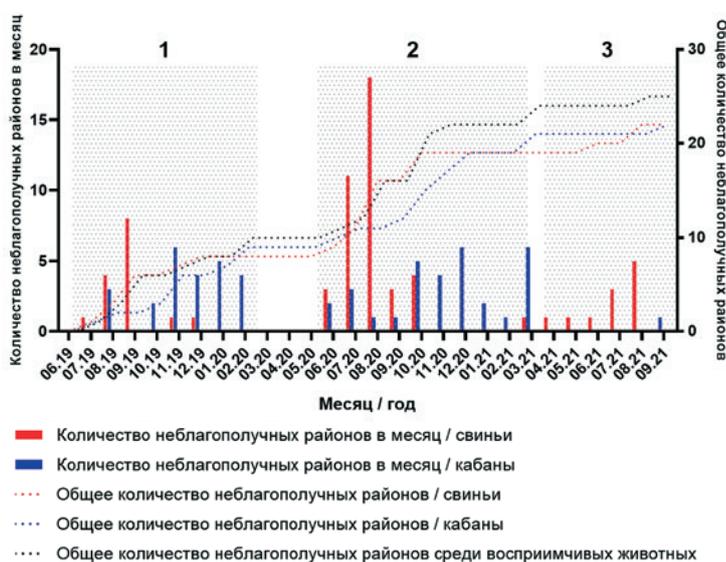


Рис. 3. Неблагополучие районов Приморского края по АЧС с июля 2019 по сентябрь 2021 г.

Номерами 1, 2, 3 отмечены три периода эпизоотии

Fig. 3. ASFV infected Raions of the Primorsky Krai from July 2019 to September 2021.

Figures 1, 2, and 3 mean three epizootic periods

Результаты термометрии и параллельных исследований проб крови от животных методами ПЦР-РВ и ТФ-ИФА представлены в разделе *Дополнительные материалы* по адресу <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2022-11-4-347-358>.

Установлено, что у зараженных животных температуру тела выше $40,0\text{ }^{\circ}\text{C}$ регистрировали начиная с 4–6-го д. п. з., в то время как у контактного – с 7-го д. п. з.

На 5-й д. п. з. у 67% (4 гол.) зараженных животных при постановке ПЦР-РВ регистрировали положительные результаты. При этом у контактного животного и у 33% (2 гол.) инфицированных с помощью вышеназванного метода получены сомнительные результаты. На 8-й д. п. з. все оставшиеся в живых особи являлись положительными на наличие генома вируса в крови. Минимальное значение C_t достигло 8,02 цикла и детектировалось у зараженной свиньи № 4.

Специфические антитела к вирусу АЧС в сыворотке крови экспериментальных животных при



Рис. 4. Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей IGR I73R/I329L изолятов из Европы, Азии и РФ.

Красными точками отмечены изоляты вируса АЧС, выделенные из биологического материала от домашних свиней, синими – от диких кабанов

Fig. 4. Comparative analysis of IGR I73R/I329L nucleotide sequences of isolates from Europe, Asia and Russia.

Red dots mark ASFV isolates, recovered from the biological material of domestic pigs; blue dots – from wild boars

использовании коммерческих наборов ТФ-ИФА, а также в ИПМ не детектировались. Значение процента ингибции не превышало 25,7% для набора INgezim PPA Comtras и 12,1% для ID Screen® African Swine Fever Indirect.

Для оценки тяжести проявления клинических признаков АЧС использовали балльную систему.

Как видно из таблицы 1, длительность течения болезни составила 3–5 дней в группе зараженных животных и 8 дней для контактного, что характерно для сверхострой и острой форм течения АЧС. Гибель животных фиксировали не позднее 8 сут после проявления первых клинических признаков АЧС.

У животных регистрировали следующие клинические признаки: повышение температуры тела выше физиологической нормы (40,0 °C) до 42,0 °C, изменение аппетита (от снижения до отказа от корма и воды), снижение упитанности (от незначительного до выраженного истощения), наличие цианотичных зон (от 1 до 20% от площади кожных покровов) и участков некроза кожных покровов, расстройство пищеварения (диарея от легкой формы до тяжелой, развитие признаков дегидратации), появление признаков поражения нервной (от состояния астении до паралича задних конечностей) и дыхательной систем (от легкого до среднего диспноэ). Выраженность клинических признаков зависела от длительности болезни. Так, у свиньи № 3, павшей от сверхострой формы АЧС (длительность болезни 3 дня), с учетом всех клинических признаков тяжесть проявления АЧС оценили в 11 баллов, в то время как у животных с острой формой ин-

фекции (длительность болезни 4–8 дней) сумма баллов составила от 12 до 18.

После гибели животных проводили патолого-анатомическое вскрытие. Тяжесть патолого-анатомических изменений также оценивали в баллах.

Из таблицы 2 видно, что, как и в случае оценки клинических признаков, тяжесть патолого-анатомических изменений зависела от формы течения болезни. Меньшее значение при суммировании баллов зарегистрировали у свиньи № 3 (12 баллов, сверхострая форма инфекции), в то время как более яркие изменения наблюдали у контактной свиньи № 7 (36 баллов, подострая форма инфекции). Из характерных патолого-анатомических изменений у животных отмечали: кровенаполнение селезенки – от минимального до умеренного (общая сумма 12 баллов); гиперплазию селезенки – от незначительной до умеренной (до 25% от нормы, 12 баллов) и лимфоузлов (8–12 баллов); пневмонию (10 баллов); наличие геморрагий под эпикардом от единичного количества до умеренного (10 баллов) и другие.

Параллельно с патолого-анатомическим вскрытием проводили отбор проб селезенки и исследование методом ПЦР-РВ.

Положительный результат на наличие генома вируса АЧС получен при исследовании проб селезенки от всех животных. Значение Ct в среднем составило 9,7 ($n = 7$) – 8,5 для зараженных, $n = 6$. Минимальное значение Ct (6,56) получено при исследовании пробы селезенки от свиньи № 5, павшей первой (8 д. п. з.), и, наоборот, самое высокое значение Ct получено при

исследовании селезенки от свиньи № 7, павшей последней (14 д. п. з.).

ОБСУЖДЕНИЕ

Первый случай АЧС на территории КНР был зарегистрирован 3 августа 2018 г. в популяции домашних свиней (г. Шэньян). В следующие 260 дней болезнь распространилась на 31 провинцию [26]. По состоянию на 21 апреля бóльшая часть вспышек (127 из 168) была зарегистрирована среди домашних свиней на мелких фермах с численностью поголовья менее 500 особей, меньшая часть – в средних (с численностью от 500 до 5000 гол., 23 из 168 вспышек) и крупных (с численностью более 5000, 18 из 168 вспышек) хозяйствах. В популяции диких кабанов за вышеназванный период всего нотифицировано 6 вспышек [27].

Считается, что основными причинами распространения болезни в Китае являются оборот свинины и кормление животных зараженными вирусом АЧС пищевыми отходами в мелких фермерских хозяйствах, а также механическое распространение транспортными средствами и персоналом в крупных [27]. При этом J. Yang [26], L. Gao [27], L. K. Dixon [28] в качестве усугубляющих факторов называют нелегальную транспортировку и продажу свиней и продукции свиноводства, высокую плотность поголовья домашних свиней и диких кабанов, большое количество малых и средних ферм (95% свиноводческой отрасли), трудность контроля трансрегиональных перевозок, сложности диагностики и неэффективные программы надзора и контроля в начале эпизоотии [27, 28].

Настороженность вызывают предположения о пропущенных на некоторых фермах случаях инфекции и занижении объявленного числа вспышек на предприятиях по производству свинины. Так, за 2 месяца до первого случая АЧС на территории КНР болезнь

со схожими клиническими и патолого-анатомическими признаками была обнаружена у свиней на двух фермах в пригороде Шэньяна, на одну из которых животные были незаконно ввезены из соседней провинции [28]. В работе S. You [29] представлена информация о более значительном снижении численности свиней в КНР, чем сообщается в официальных источниках. Выше-сказанное не исключает и широкого распространения болезни в популяции дикого кабана, о вспышках которой не сообщалось официально.

В 2019 г. в ДФО за короткий промежуток времени (один месяц) болезнь впервые была зарегистрирована на территориях Приморского края, ЕАО и Амурской области, граничащих с Китаем. Первые вспышки болезни в вышеназванных регионах были отмечены в популяциях домашних свиней. Однако если в Амурской области и ЕАО на протяжении одного месяца

Таблица 1
Оценка клинических признаков

Table 1
Assessment of clinical signs

Группа	Номер животного	День после заражения															
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Контакт	7	•	•	•	•	•	•	•	5	4	6	7	4	8	12	18	†
	1	♄	•	•	•	•	4	6	9	12	†						
Зараженные	2	♄	•	•	•	5	6	7	14	18	†						
	3	♄	•	•	•	•	5	8	11	†							
	4	♄	•	•	•	•	4	5	5	10	14	†					
	5	♄	•	•	•	•	5	8	13	†							
	6	♄	•	•	•	•	•	6	6	7	13	16	†				

† – дата падежа (death date);
♄ – дата заражения (infection date).

Таблица 2
Оценка степени патолого-анатомических изменений

Table 2
Scoring of post-mortem lesions

Номер животного	Легкие			Сердце		Селезенка		Лимфоузлы			Печень		Почки			Мочевой пузырь	Транссудат		Сумма баллов
	отеки	пневмония	крововизлияния под плеврой	геморрагический диатез, дистрофия	транссудат в перикардиальной полости	кровенаполнение	спленомегалия	подчелюстные	брыжеечные	паховые	гепатопатия	желчевыводящие пути	геморрагический диатез в корковом и мозговом веществе	субкапсулярные геморрагии	крововизлияния в почечной лоханке	геморрагический диатез в слизистой оболочке	грудная полость	брюшная полость	
7	2	3	1	3	2	2	3	2	3	1	2	2	2	2	2	1	1	2	36
1	0	1	1	1	1	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	18
2	1	2	1	1	2	2	2	2	2	2	2	1	1	2	1	1	0	1	26
3	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	12
4	1	1	0	1	0	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	16
5	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	14
6	1	2	1	2	2	2	2	2	1	1	2	1	2	1	2	1	0	1	26
Сумма баллов	6	10	6	10	9	12	12	12	10	8	9	7	9	8	8	6	1	5	148

и четырех соответственно вспышки возникали исключительно среди домашних свиней с дальнейшим развитием преимущественно в популяции данного вида, то на территории Приморского края за первый месяц неблагополучия по АЧС болезнь регистрировали и среди диких кабанов (3 вспышки).

За первый месяц неблагополучия в Приморском крае вспышки АЧС зарегистрированы на расстоянии порядка 90 км от места ближайшего официально нотифицированного в КНР случая среди домашних свиней (11.12.2018) и 490 км – в популяции кабанов (14.11.2018). Однако, учитывая высокую плотность восприимчивых популяций, низкий уровень биозащиты хозяйств, слабый контроль за перемещением восприимчивого поголовья, его незаконную транспортировку, малоэффективную политику борьбы с инфекцией и ее контроль, а также возможное сокрытие заболеваемости (в т. ч. и в приграничных к РФ территориях) и позднее обнаружение АЧС [26, 27, 29], можно предположить циркуляцию возбудителя в непосредственной близости от границ с Россией.

В открытой печати высказана критика государственной ветеринарной службы Приморского края, которую обвиняют в ошибках при организации и проведении профилактической работы по предотвращению заноса АЧС [30], указывается, что скорость распространения инфекции в популяции кабанов составляла от 12 до 36 км в год [31, 32]. Данный факт, а также параллельное (с очагами среди домашних свиней) выявление возбудителя в пробах от павших кабанов (с учетом длительности сохранения вируса в трупах животных) не позволяют сделать однозначного вывода относительно пути заноса АЧС на территорию Приморского края.

Ряд исследователей выдвигают гипотезу о заносе вируса АЧС из КНР на территорию РФ при миграции инфицированных диких кабанов. Они обосновывают свое предположение значительной плотностью популяции в регионе при высокой вероятности сокрытия очагов АЧС среди диких кабанов в Китае [7–10]. Однако имеющиеся развитые торговые связи с Китаем и данные официальной нотификации болезни позволяют также предположить занос вируса в результате транспортировки инфицированных животных и продукции свиноводства.

Регистрация первых вспышек болезни на значительном расстоянии друг от друга (до 315 км от места первого обнаружения) и от государственной границы с КНР (от 10 до 60 км) в обеих популяциях восприимчивых животных может являться следствием длительной циркуляции возбудителя в дикой фауне и/или сокрытия случаев заболевания и/или свидетельствовать о множественных путях заноса инфекции в регион. К последнему мнению пришли также О. I. Zakharova et al. [11].

Согласно данным литературы, ведущая роль в распространении АЧС в РФ отводится антропогенному фактору [33, 34]. При анализе распространения эпизоотии в ДФО, проведенном О. I. Zakharova et al., был сделан вывод о формировании кластеров вспышек АЧС среди домашних свиней в ЕАО, Амурской области и Хабаровском крае, в то время как на территории Приморского края, кроме очагов отдельно в популяции домашних и отдельно диких свиней, были образованы смешанные кластеры (дикий кабан + домашняя свинья). Также авторами был проведен анализ медианного распространения инфекции в регионе, который показал перемещение болезни с запада (Амурская область)

на восток и с юга (Приморский край) на север с концентрацией вспышек в Хабаровском крае [11].

Анализ результатов лабораторных исследований изолята вируса АЧС ASFV/Primorsky 19/WB-6723 (Приморский край) в сравнении с другими изолятами, выделенными в том же году на территориях Приморского края, Амурской области и Китая, показывает, что по IGR они относятся к группам I и II, и найти связь между ними не представляется возможным. Таким образом, можно предположить неоднократный занос инфекции на территорию ДФО и/или циркуляцию негомологичной популяции вируса АЧС.

Использование ограниченного числа молекулярных маркеров, таких как IGR I73R/I329L, в настоящее время становится малоинформативным, что делает актуальной необходимость поиска новых маркеров с большей разрешающей способностью. Так, одним из способов решения данной задачи является проведение полногеномного секвенирования циркулирующих изолятов вируса АЧС и их сравнительных анализ [25].

За исследуемый промежуток времени (07.2019–09.2021) эпизоотия АЧС в регионе может быть условно разделена на 3 периода, каждый из которых имеет сходные временные и эпизоотологические (регистрация случаев в каждой из восприимчивых популяций и количество первых вспышек в ранее благополучных районах края) параметры. Так, увеличение случаев болезни регистрировали с июня по сентябрь каждого периода, такую тенденцию наблюдали преимущественно в популяции домашних свиней. Затем с октября по март происходил рост заболевания в основном среди диких кабанов. Болезнь была первично зарегистрирована в популяции домашних свиней в 14 очагах (56% случаев), 12 из которых пришлось на первые половины периодов № 1 и 2. В 10 очагах (40% случаев) АЧС диагностировали сначала у диких кабанов, 8 из них выпали на вторые половины всех трех периодов.

Также стоит отметить, что возникновение очагов преимущественно в ЛПХ и КФХ, которые имеют низкий уровень компартамента (следовательно, и биозащиты), была связана с нарушениями ветеринарных правил содержания свиней. Вышеназванное, а также распространение болезни по транспортным магистралям может являться следствием сокрытия заболевания животных собственниками, что возможно при применении неэффективных стратегий надзора за болезнью и неконтролируемых перемещений восприимчивых животных, а также нарушениях при проведении профилактических и карантинных мероприятий. Поэтому только жесткие карантинные меры и неукоснительное исполнение требований ветеринарного законодательства могут предотвратить дальнейшее распространение инфекции [8].

Сезонность регистрации АЧС в популяции домашних свиней оказалась выраженной и характерной для всей неблагополучной территории РФ. Нотификация болезни в летне-осенний период (июль – сентябрь) с пиком в августе, скорее всего, обусловлена особенностями технологии содержания свиней (свободный выгул, кормление пищевыми отходами без предварительной тепловой обработки, объединение групп животных) и оборотом стада свиней, в том числе в ЛПХ, содержащих до 100 гол. восприимчивых животных, особенно учитывая преимущественную регистрацию болезни вдоль транспортных магистралей в хозяйствах малых форм собственности [8, 10, 33].

Преобладающее число случаев регистрации АЧС в Приморском крае среди павших кабанов (72% случаев на территории 19 районов) относительно отстрелянных (28% случаев на территории 11 районов) может свидетельствовать о высокой смертности, характерной для болезни (до 100% зараженных животных). Однако на территории трех районов вспышки АЧС среди кабанов были зарегистрированы исключительно при исследовании отстрелянных животных, что позволяет предположить невысокую эффективность стратегии надзора за АЧС в изучаемом регионе, и/или позднее обнаружение инфекции в этих районах, и/или циркуляцию изолятов со сниженной вирулентностью. Так, V. Gervasi et al. сделан вывод о том, что в начале эпизоотии пассивный надзор (поиск трупов павших животных и исследование 100% отобранных проб) позволяет обнаружить инфицированных животных в более ранние сроки с момента заноса вируса в популяцию и в большем количестве по сравнению с активным надзором (исследование отстрелянных животных) [35].

Сравнивая сезонность регистрации АЧС у павших и отстрелянных диких кабанов, отмечали первоначальный сезонный пик регистрации болезни (июль, ноябрь) у павших и последующий (декабрь – февраль) среди отстрелянных, что также подтверждает первостепенную важность проведения пассивного надзора за инфекцией с целью раннего обнаружения болезни в регионе [35].

Однако в то время как по регистрации вспышек АЧС у домашних свиней и отстрелянных кабанов можно судить о сезонности распространения болезни, то в группе павших кабанов, ввиду сложности установления точных дат падежа и длительной сохранности возбудителя в трупах, нельзя сделать вывод об истинной сезонности неблагополучия по заболеванию.

Отсутствие исследований, направленных на выявление специфических антител в образцах от диких кабанов, может искажать реальную картину эпизоотической ситуации в регионе и не позволяет выявить всех инфицированных животных [36]. Данный факт может быть связан со сложностями отбора и доставки проб сыворотки крови от кабанов, а также с возможным отсутствием на местах таких тест-систем и/или методов, позволяющих проводить исследование образцов, альтернативных сыворотке (пробы органов, мясного сока и/или крови, в т. ч. высушенной на фильтровальной бумаге), на наличие антител к возбудителю, как коммерческие наборы для постановки ТФ-ИФА ID Screen® African Swine Fever Indirect (IDvet, Франция) и референтные методы ИПМ, иммуноблотинга и/или реакции непрямой иммунофлюоресценции. При этом стоит отметить наличие коммерчески доступных иммунохроматографических экспресс-тестов, например INgezim PPA CROM Anticuerpo (Ingenasa, Испания) [37], направленных на обнаружение специфических антител, которые можно использовать в полевых условиях, что особенно актуально при проведении мониторинга в популяции диких кабанов.

Клиническая и патолого-анатомическая картина болезни животных, зараженных изолятом вируса АЧС ASFV/Primorsky 19/WB-6723, были характерны для изолятов, выделенных на территории России в 2007–2018 гг., которые обладали 100%-й летальностью для свиней [12–15, 17–19].

Исследование образцов крови от инфицированных данным изолятом животных позволило получить положительные результаты исключительно при их исследо-

вании прямыми методами (например, методом ПЦР-РВ), в то время как использование косвенных методов диагностики (на наличие специфических антител) оказалось неэффективным (все пробы сывороток крови были отрицательными). Последнее может являться следствием короткого времени течения болезни и гибели зараженных животных до появления у них антител на диагностически различимом уровне.

Стоит отметить, что в данном исследовании описаны биологические свойства, относящиеся исключительно к изучаемому изоляту вируса АЧС при выбранной модели заражения (внутримышечное), который был выделен в начале эпизоотии в Приморском крае, и они могут отличаться от таковых у современных циркулирующих изолятов. Так, по мере развития эпизоотии возможно изменение как молекулярно-генетических, так и биологических свойств, что подтверждается увеличением числа серопозитивных животных в странах ЕС, а также выявлением генетически измененных и менее вирулентных изолятов вируса, в т. ч. и в Китае [38, 39]. При этом выживание части животных возможно и при заражении высоковирулентными изолятами. Так, при оральном заражении кабанов изолятом вируса АЧС, выделенным в Эстонии, 9 из 10 животных пали на 7–13-й д. п. з. с признаками острой формы болезни, однако одно животное выздоровело и было подвергнуто эвтаназии на 96-й д. п. з. [40]. Также A. Pershin et al. отмечают, что при изучении биологических свойств вируса полученные в ходе экспериментального заражения результаты могут отличаться от данных, полученных в полевых условиях, что может быть связано как с видом, возрастом, физиологическим состоянием используемых в опыте животных, так и с выбранным способом заражения, инвазивностью метода отбора проб [17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Занос вируса АЧС на территорию ДФО, вероятно, произошел из Китая. Подтвержден вывод, сделанный O. I. Zakharova et al. [11], касательно множественных путей проникновения возбудителя в регион, в т. ч. Приморский край. Так, факторами передачи инфекции могли послужить как антропогенный фактор (товарно-хозяйственные связи), так и трансграничная миграция дикого кабана [7–10, 29].

Параллельная регистрация вспышек инфекции в обеих популяциях восприимчивых животных (домашние свиньи и дикие кабаны) в течение первого месяца неблагополучия и обнаружение двух разных генетических групп по IGR I73R/I329L (группы I и II) также подтверждают гипотезу о множественных путях заноса инфекции в изучаемый регион и/или могут являться следствием позднего обнаружения возбудителя в крае при ненадлежащем проведении профилактической работы по предотвращению заноса АЧС на территорию субъекта, о чем, в частности, сообщалось Россельхознадзором [29].

Причиной широкого распространения инфекции и длительного неблагополучия изучаемого субъекта по АЧС, вероятно, послужили занос возбудителя в дику фауны, высокая плотность популяции кабана в регионе, низкий уровень биозащиты свиноводческих хозяйств, а также неконтролируемое перемещение инфицированных свиней и продукции свиноводства [7–10, 29].

Отмечена циклическая (годовая) регистрация болезни, определены соответствующие периоды.

Сезонность проявления инфекции среди домашних свиней определена как характерная для РФ. Выявлен сезонный пик обнаружения АЧС среди павших диких кабанов, предшествующий регистрации вспышек в группе отстрелянных животных данного вида. При этом выявленная сезонность с большей вероятностью может быть обусловлена способом содержания свиней и их перемещением, видовыми особенностями диких кабанов (период гона, перегруппировка стад) и их сезонной подкормкой, а также спецификой надзорных мероприятий (в т. ч. неравномерным распределением диагностических исследований) в обеих восприимчивых популяциях, чем истинной сезонностью болезни [33, 41].

В ряде районов Приморского края болезнь регистрировали исключительно среди отстрелянных кабанов, что может указывать на отсутствие проведения мероприятий по поиску и уничтожению трупов животных и позволяет предположить дальнейшее длительное неблагоприятное воздействие данных территорий.

Впервые изучен и проведен анализ биологических свойств изолята вируса АЧС ASFV/Primorsky 19/WB-6723, выделенного из трубчатой кости от павшего дикого кабана на территории Приморского края. Выбранный изолят охарактеризован как высоковирулентный, способный вызывать от сверхострой до подострой формы течения инфекции с гибелью до 100% зараженных животных.

Подтверждена первостепенная важность проведения пассивного эпизоотологического надзора с регулярным отбором и исследованием проб от всех животных с признаками болезни, схожими с АЧС (инцидентная диагностика среди подозрительных больных и павших животных прямыми методами на обнаружение вируса, его антигена, генома) [35].

В случаях, когда вирус АЧС циркулирует в восприимчивой популяции длительное время (например, более полугодя), прямые методы исследования рационально дополнять косвенными (на обнаружение антител, с учетом возможности исследования как проб крови, так и внутренних органов), в первую очередь при исследовании образцов от отстрелянных диких кабанов.

Во избежание продолжения эпизоотии и ухудшения сложившейся ситуации как в Приморском крае, так и на всей территории РФ требуется корректировка применяемых подходов к осуществлению эпизоотического надзора и контроля болезни, в т. ч. усиление наблюдения за состоянием здоровья животных, а также их идентификация, строгий учет передвижения свиней и полученной от них продукции, обеспечение надежной защиты всех типов свиноводческих хозяйств от заноса вируса АЧС, своевременное и неукоснительное выполнение всех регламентированных нормативными документами мер борьбы с инфекцией.

С целью дифференциации и изучения эволюции вируса АЧС, циркулирующего на территории РФ (в т. ч. в Приморском крае), необходимо образцы, оказавшиеся положительными или сомнительными при их исследовании в региональных лабораториях, направлять в референтную лабораторию по АЧС ФГБУ «ВНИИЗЖ» для подтверждения диагноза и проведения научно-исследовательских работ, включая проведение полногеномного секвенирования изолятов вируса и поиск новых актуальных генетических маркеров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Груздев К. Н., Иголкин А. С., Рахманов А. М., Шевцов А. А. Африканская чума свиней в России: распространение и клинико-анатомическое проявление. *Ветеринария сегодня*. 2014; (4): 10–24. eLIBRARY ID: 22445544.
2. Beltran-Alcrudo D., Arias M., Gallardo C., Kramer S., Penrith M. L. African swine fever: Detection and diagnosis – A manual for veterinarians. *FAO Animal Production and Health Manual No. 19*. Rome: FAO; 2017. 88 p. Режим доступа: <https://www.fao.org/3/i7228e/i7228e.pdf>.
3. Мазлум А., Иголкин А. С., Власова Н. Н., Роменская Д. В. Вирус африканской чумы свиней: использование генетических маркеров при анализе путей его распространения. *Ветеринария сегодня*. 2019; (3): 3–14. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-3-8.
4. European Food Safety Authority (EFSA), Desmecht D., Gerbier G., Gortázar Schmidt C., Grigaliuniene V., Helyes G., et al. Epidemiological analysis of African swine fever in the European Union (September 2019 to August 2020). *EFSA J.* 2021; 19 (5):e06572. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6572.
5. Sun E, Huang L., Zhang X., Zhang J., Shen D., Zhang Z., et al. Genotype I African swine fever viruses emerged in domestic pigs in China and caused chronic infection. *Emerg. Microbes. Infect.* 2021; 10 (1): 2183–2193. DOI: 10.1080/22221751.2021.1999779.
6. WOAH. Animal disease events. Режим доступа: <https://wahis.woah.org/#/report-management> (дата обращения: 06.02.2022).
7. Теребова С. В., Колтун Г. Г., Подвалова В. В., Короткова И. П. Анализ риска распространения африканской чумы свиней в Приморском крае. *Аграрный вестник Приморья*. 2020; 1 (17): 13–18. eLIBRARY ID: 42918095.
8. Теребова С. В., Колтун Г. Г., Подвалова В. В., Короткова И. П. Эпизоотии африканской чумы свиней в Приморском крае. *Проблемы зоотехнии, ветеринарии и биологии животных на Дальнем Востоке: сборник научных трудов. Отв. редактор В. А. Гоголов*. Благовещенск: Дальневосточный государственный аграрный университет; 2020; 27: 82–86. eLIBRARY ID: 43984373.
9. Момот Н. В., Колина Ю. А., Камлия И. Л. Новые вспышки африканской чумы свиней в дикой природе. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2020; 11 (193): 99–102. eLIBRARY ID: 44277338.
10. Момот Н. В., Колина Ю. А., Камлия И. Л. Профилактика и меры борьбы с африканской чумой свиней. *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2021; 245 (1): 112–116. DOI: 10.31588/2413-4201-1883-245-1-112-116.
11. Zakharova O. I., Titov I. A., Gogin A. E., Sevskikh T. A., Korennoy F. I., Kolbasov D. V., et al. African swine fever in the Russian Far East (2019–2020): Spatio-temporal analysis and implications for wild ungulates. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8:723081. DOI: 10.3389/fvets.2021.723081.
12. Ремыга С. Г., Першин А. С., Шевченко И. В., Иголкин А. С., Шевцов А. А. Клинические и патологоанатомические изменения у диких европейских кабанов и домашних свиней при заражении вирусом африканской чумы свиней. *Ветеринария сегодня*. 2016; (3): 46–51. eLIBRARY ID: 27175029.
13. Власов М. Е., Сибгатуллова А. К., Балышев В. М. Особенности течения африканской чумы у свиней, инфицированных изолятами вируса АЧС, выделенными в Российской Федерации. *Ветеринария*. 2019; 4: 15–19. DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.4.15-19.
14. Болгова М. В., Моргунов Ю. П., Васильев А. П., Балышев В. М. Биологические свойства изолятов вируса африканской чумы свиней, выделенных в Российской Федерации в 2012 г. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2013; 4 (20): 26–30. eLIBRARY ID: 20911850.
15. Балышев В. М., Власов М. Е., Имамдинов А. Р., Титов И. А., Моргунов С. Ю., Малооголовкин А. С. Биологические свойства и молекулярно-генетическая характеристика вируса африканской чумы свиней, выделенного в 2016–2017 гг. в различных регионах Российской Федерации. *Российская сельскохозяйственная наука*. 2018; (4): 54–57. DOI: 10.31857/S250026270000536-4.
16. Черных О. Ю., Кривонос Р. А., Верховский О. А., Алипер Т. И., Першин А. С., Жуков И. Ю. и др. Молекулярно-биологические свойства изолята Тимашевск 01/18. *Ветеринарный врач*. 2019; 2: 15–22. DOI: 10.33632/1998-698X.2019-2-15-22.
17. Pershin A., Shevchenko I., Igolkin A., Zhukov I., Mazloun A., Aroponova E., et al. A long-term study of the biological properties of ASF virus isolates originating from various regions of the Russian Federation in 2013–2018. *Vet. Sci.* 2019; 6 (4):99. DOI: 10.3390/vetsci6040099.
18. Шевченко И. В. Биологические свойства и анализ полных геномов российских изолятов вируса африканской чумы свиней, выделенных в 2013–2014 гг.: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владимир; 2017. 23 с. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rls101006663342?page=1&rotate=0&theme=white>.
19. Жуков И. Ю. Биологические свойства изолятов вируса африканской чумы свиней и особенности течения болезни при экспериментальном заражении: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владимир; 2018. 23 с.

Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01008706424?page=1&rotate=0&theme=white>.

20. Сибгатуллова А. К., Власов М. Е., Лунина Д. А. Пространственно-временные характеристики результатов генотипирования по межгенному участку I73R/I329D изолятов вируса АЧС, циркулирующих на территории РФ. *Ветеринария*. 2021; 1: 29–32. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.1.29-32.

21. Власов М. Е. Биологические свойства изолятов вируса африканской чумы свиней, выделенных в различных регионах Российской Федерации от кабанов и домашних свиней: дис. ... канд. вет. наук. пос. Вольгинский; 2021. 149 с.

22. Шевченко И. В., Жуков И. Ю., Першин А. С., Ремыга С. Г., Шевцов А. А., Иголкин А. С. Методические рекомендации по постановке биопробы с заражением свиней вирусом африканской чумы свиней: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 28.12.2017 № 77-17. Владимир; 2017. 11 с.

23. Методические указания по оценке клинических признаков и патологоанатомических изменений при экспериментальном заражении вирусом африканской чумы свиней: утв. Россельхознадзором в 2017 г. МУ 40-15. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2017. 21 с.

24. Першин А. С., Комова Т. Н., Шотин А. Р., Жуков И. Ю., Власова Н. Н., Шевченко И. В., Иголкин А. С. Методические рекомендации по выявлению антител к вирусу африканской чумы свиней иммунопероксидазным методом: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 26.12.2019 № 106-19. Владимир; 2020. 12 с.

25. Mazloum A., van Schalkwyk A., Shotin A., Igolkin A., Shevchenko I., Gruzdev K. N., Vlasova N. Comparative analysis of full genome sequences of African swine fever virus isolates taken from wild boars in Russia in 2019. *Pathogens*. 2021; 10 (5):521. DOI: 10.3390/pathogens10050521.

26. Yang J., Tang K., Cao Z., Pfeiffer D. U., Zhao K., Zhang Q., Zeng D. D. Demand-driven spreading patterns of African swine fever in China. *Chaos*. 2021; 31 (6):061102. DOI: 10.1063/5.0053601.

27. Gao L., Sun X., Yang H., Xu Q., Li J., Kang J., et al. Epidemic situation and control measures of African swine fever outbreaks in China 2018–2020. *Transbound. Emerg. Dis.* 2021; 68 (5): 2676–2686. DOI: 10.1111/tbed.13968.

28. Dixon L. K., Sun H., Roberts H. African swine fever. *Antiviral Res.* 2019; 165: 34–41. DOI: 10.1016/j.antiviral.2019.02.018.

29. You S., Liu T., Zhang M., Zhao X., Dong Y., Wu B., et al. African swine fever outbreaks in China led to gross domestic product and economic losses. *Nat. Food*. 2021; 2: 802–808. DOI: 10.1038/s43016-021-00362-1.

30. Россельхознадзор. Зарегистрирована вспышка африканской чумы свиней в Приморском крае. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/news/31380.html> (дата обращения: 22.02.2022).

31. Gallardo C., Sastre P., Rueda P., Gerilovych A. P., Kit M., Nurmoja I., Le Potier M. F. Methods for African swine fever diagnosis in clinical and environmental samples. Chapter 5. In: *Understanding and combatting African swine fever. A European perspective*. Eds.: L. Iacolina, M.-L. Penrith, S. Bellini, E. Chenais, F. Jori, M. Montoya, et al. 2021; 141–160. DOI: 10.3920/978-90-8686-910-7_5.

32. EFSA (European Food Safety Authority), Cortiñas Abrahantes J., Gogin A., Richardson J., Germeyer A. Epidemiological analyses on African swine fever in the Baltic countries and Poland. *EFSA Journal*. 2017; 15 (3):4732. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.4732.

33. 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. В кн.: *Прогнозы по заразным болезням животных в Российской Федерации на 2018 год*. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2018; 56–92.

34. Оганесян А. С., Шиббаев М. А., Баскакова Н. Е., Коренной Ф. И., Караулов А. К. Эпизоотия африканской чумы свиней 2007–2017 гг. Часть 1. Общие тренды АЧС на территории Российской Федерации и Евразии. *Ветеринария сегодня*. 2018; (2): 18–25. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-2-25-18-25.

35. Gervasi V., Marcon A., Bellini S., Guberti V. Evaluation of the efficiency of active and passive surveillance in the detection of African swine fever in wild boar. *Vet. Sci.* 2019; 7 (1):5. DOI: 10.3390/vetsci7010005.

36. Gallardo C., Fernández-Pinero J., Arias M. African swine fever (ASF) diagnosis, an essential tool in the epidemiological investigation. *Virus Res.* 2019; 271:197676. DOI: 10.1016/j.virusres.2019.197676.

37. Mur L., Igolkin A., Varentsova A., Pershin A., Remyga S., Shevchenko I., Zhukov I., Sánchez-Vizcaino J. M. Detection of African Swine Fever Antibodies in Experimental and Field Samples from the Russian Federation: Implications for Control. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (5):e436-40. DOI: 10.1111/tbed.12304.

38. Gallardo C., Soler A., Rodze I., Nieto R., Cano-Gómez C., Fernández-Pinero J., Arias M. Attenuated and non-haemadsorbing (non-HAD) genotype II African swine fever virus (ASFV) isolated in Europe, Latvia 2017. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019; 66 (3): 1399–1404. DOI: 10.1111/tbed.13132.

39. Sun E., Zhang Z., Wang Z., He X., Zhang X., Wang L., et al. Emergence and prevalence of naturally occurring lower virulent African swine fever viruses in domestic pigs in China in 2020. *Sci. China. Life Sci.* 2021; 64 (5): 752–765. DOI: 10.1007/s11427-021-1904-4.

40. Nurmoja I., Petrov A., Breidenstein C., Zani L., Forth J. H., Beer M., et al. Biological characterization of African swine fever virus genotype II strains from north-eastern Estonia in European wild boar. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): 2034–2041. DOI: 10.1111/tbed.12614.

41. Федосеева Д. Н., Аронова Е. В., Варенцова А. А., Елсукова А. А., Мазлум А., Шарыпова Д. В. и др. Анализ результатов мониторинговых исследований по выявлению ДНК вируса африканской чумы свиней, проведенных в 2017 г. *Ветеринария сегодня*. 2018; (3): 21–25. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-3-26-21-25.

REFERENCES

1. Gruzdev K. N., Igolkin A. S., Rakhmanov A. M., Shevtsov A. A. African swine fever in Russia: spread, clinical and anatomical manifestations. *Veterinary Science Today*. 2014; (4): 10–24. eLIBRARY ID: 22445544.

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

3. Mazloum A., Igolkin A. S., Vlasova N. N., Romenskaya D. V. African swine fever virus: use of genetic markers in analysis of its routes of spread. *Veterinary Science Today*. 2019; (3): 3–14. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-3-30-3-8.

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

5. Sun E., Huang L., Zhang X., Zhang J., Shen D., Zhang Z., et al. Genotype I African swine fever viruses emerged in domestic pigs in China and caused chronic infection. *Emerg. Microbes. Infect.* 2021; 10 (1): 2183–2193. DOI: 10.1080/22221751.2021.1999779.

6. WOA. Animal disease events. Available at: <https://wahis.woah.org/#/report-management> (date of access: 06.02.2022).

7. Terebova S. V., Koltun G. G., Podvalova V. V., Korotkova I. P. Risk analysis of the spread of african swine fever in Primorsky kraj. *Agrarnyi vestnik Primor'ya*. 2020; 1 (17): 13–18. eLIBRARY ID: 42918095. (in Russ.)

8. Terebova S. V., Koltun G. G., Podvalova V. V., Korotkova I. P. Epizootii afrikanской чумы свиней в Приморском крае. *Problemy zootekhonii, veterinarii i biologii zhivotnykh na Dal'nem Vostoke = Problems of animal management, veterinary medicine and animal biology in the Far East: Proceedings. Responsible editor V. A. Gogulov*. Blagoveshchensk: Far Eastern State Agrarian University; 2020; 27: 82–86. eLIBRARY ID: 43984373. (in Russ.)

9. Momot N. V., Kolina Yu. A., Kamliya I. L. New outbreaks of African swine fever in the wild. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2020; 11 (193): 99–102. eLIBRARY ID: 44277338. (in Russ.)

10. Momot N. V., Kolina Yu. A., Kamliya I. L. Prevention and control of African swine fever. *Scientific notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2021; 245 (1): 112–116. DOI: 10.31588/2413-4201-1883-245-1-112-116. (in Russ.)

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

12. Remyga S. G., Pershin A. S., Shevchenko I. V., Igolkin A. S., Shevtsov A. A. Clinical and post-mortem signs in European wild boars and domestic pigs infected with African swine fever virus. *Veterinary Science Today*. 2016; (3): 46–51. eLIBRARY ID: 27175029. (in Russ.)

13. Vlasov M. E., Sibgatullova A. K., Balyshv V. M. The course of disease in pigs infected with ASF virus isolates, obtained in different regions of the Russian Federation. *Veterinariya*. 2019; 4: 15–19. DOI: 10.30896/0042-4846.2019.22.4.15-19. (in Russ.)

14. Bolgova M. V., Morgounov Yu. P., Vasilyev A. P., Baluishev V. M. Biological characteristics of african swine fever virus isolates detected in the Russian Federation in 2012. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2013; 4 (20): 26–30. eLIBRARY ID: 20911850. (in Russ.)

15. Balyshv V., Vlasov M., Imatdinov A., Titov I., Morgunov S., Malogolovkin A. Biological properties and molecular genetic characteristics of the African swine fever virus, isolated in 2016–2017 in various regions of the Russian Federation. *Rossiiskaia selskokhoziaistvennaia nauka*. 2018; (4): 54–57. DOI: 10.31857/S250026270000536-4. (in Russ.)

16. Chernykh O. Yu., Krivonos R. A., Verhovskiy O. A., Aliper T. I., Pershin A. S., Zhukov I. Yu., et al. Molecular and biological properties of the isolate Timashevsk 01/18. *Veterinarian*. 2019; 2: 15–22. DOI: 10.33632/1998-698X.2019-2-15-22. (in Russ.)

17. Pershin A., Shevchenko I., Igolkin A., Zhukov I., Mazloum A., Aroнова E., et al. A long-term study of the biological properties of ASF virus isolates originating from various regions of the Russian Federation in 2013–2018. *Vet. Sci.* 2019; 6 (4):99. DOI: 10.3390/vetsci6040099.

18. Shevchenko I. V. Biological properties and whole genome sequencing of Russian ASFV isolates, recovered in 2013–2014: Author's Abstract of Candidate of Biological Sciences' Thesis. Vladimir; 2017. 23 p. Available at:

https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01006663342?page=1&rotate=0&theme=white. (in Russ.)

19. Zhukov I. Yu. Biological properties of African swine fever virus isolates and peculiarities of the disease course after experimental infection: Author's Abstract of Candidate of Biological Sciences' Thesis. Vladimir; 2018. 23 p. Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01008706424?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)

20. Sibgatullova A. K., Vlasov M. E., Lunina D. A. Spatial-temporal characteristics of the results of genotyping of the I73R/I329L adjacent region of ASF virus isolates circulating in the territory of the Russian Federation. *Veterinariya*. 2021; 1: 29–32. DOI: 10.30896/0042-4846.2021.24.1.29-32. (in Russ.)

21. Vlasov M. E. Biological properties of African swine fever virus isolates recovered in different regions of the Russian Federation from wild boar and domestic pigs: Candidate of Veterinary Sciences' Thesis. Volginsky; 2021. 149 p. (in Russ.)

22. Shevchenko I. V., Zhukov I. Yu., Pershin A. S., Remyga S. G., Shevtsov A. A., Igolkin A. S. Guidelines for bioassay procedure involving infection of pigs with African swine fever virus: approved by FGBI "ARRIAH" 28.12.2017 No. 77-17. Vladimir; 2017. 11 p. (in Russ.)

23. Guidelines for the assessment of clinical signs and post-mortem lesions after experimental infection with African swine fever virus: approved by Rosselkhoz nadzor in 2017. MU 40-15. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2017. 21 p. (in Russ.)

24. Pershin A. S., Komova T. N., Shotin A. R., Zhukov I. Yu., Vlasova N. N., Shevchenko I. V., Igolkin A. S. Guidelines for detection of African swine fever virus antibodies with immunoperoxidase assay: approved by FGBI "ARRIAH" 26.12.2019 No. 106-19. Vladimir; 2020. 12 p. (in Russ.)

25. Mazloun A., van Schalkwyk A., Shotin A., Igolkin A., Shevchenko I., Gruzdev K. N., Vlasova N. Comparative analysis of full genome sequences of African swine fever virus isolates taken from wild boars in Russia in 2019. *Pathogens*. 2021; 10 (5):521. DOI: 10.3390/pathogens10050521.

26. Yang J., Tang K., Cao Z., Pfeiffer D. U., Zhao K., Zhang Q., Zeng D. D. Demand-driven spreading patterns of African swine fever in China. *Chaos*. 2021; 31 (6):061102. DOI: 10.1063/5.0053601.

27. Gao L., Sun X., Yang H., Xu Q., Li J., Kang J., et al. Epidemic situation and control measures of African swine fever outbreaks in China 2018–2020. *Transbound. Emerg. Dis.* 2021; 68 (5): 2676–2686. DOI: 10.1111/tbed.13968.

28. Dixon L. K., Sun H., Roberts H. African swine fever. *Antiviral Res.* 2019; 165: 34–41. DOI: 10.1016/j.antiviral.2019.02.018.

29. You S., Liu T., Zhang M., Zhao X., Dong Y., Wu B., et al. African swine fever outbreaks in China led to gross domestic product and economic losses. *Nat. Food*. 2021; 2: 802–808. DOI: 10.1038/s43016-021-00362-1.

30. Rosselkhoz nadzor. Zaregistrovannaya vspyshka afrikanskoj chumy svinej v Primorskom krae = African swine fever outbreak reported in the Primorsky Krai. Available at: <https://fsvps.gov.ru/fsvps/news/31380.html> (date of access: 22.02.2022). (in Russ.)

31. Gallardo C., Sastre P., Rueda P., Gerilovych A. P., Kit M., Nurmoja I., Le Potier M. F. Methods for African swine fever diagnosis in clinical and en-

vironmental samples. Chapter 5. In: *Understanding and combatting African swine fever. A European perspective*. Eds.: L. Iacolina, M.-L. Penrith, S. Bellini, E. Chenais, F. Jori, M. Montoya, et al. 2021; 141–160. DOI: 10.3920/978-90-8686-910-7_5.

32. EFSA (European Food Safety Authority), Cortiñas Abrahantes J., Gogin A., Richardson J., Gervelmeyer A. Epidemiological analyses on African swine fever in the Baltic countries and Poland. *EFSA Journal*. 2017; 15 (3):4732. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.4732.

33. Petrova O. N., Korennoy F. I., Tatsenko E. E., Karaulov A. K., Gulenkin V. M. Prognoz po afrikanskoj chume svinei v Rossijskoj Federatsii na 2018 god = African swine fever forecast in the Russian Federation for 2018. In: *Infectious animal disease forecasting for 2018*. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2018; 56–92. (in Russ.)

34. Oganessian A. S., Shibayev M. A., Baskakova N. Ye., Korennoy F. I., Karaulov A. K. African swine fever epidemic in 2007–2017. Part 1. Common trends for ASF in the Russian Federation and in Eurasia. *Veterinary Science Today*. 2018; (2): 18–25. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-2-25-18-25.

35. Gervasi V., Marcon A., Bellini S., Guberti V. Evaluation of the efficiency of active and passive surveillance in the detection of African swine fever in wild boar. *Vet. Sci.* 2019; 7 (1):5. DOI: 10.3390/vetsci7010005.

36. Gallardo C., Fernández-Pinero J., Arias M. African swine fever (ASF) diagnosis, an essential tool in the epidemiological investigation. *Virus Res.* 2019; 271:197676. DOI: 10.1016/j.virusres.2019.197676.

37. Mur L., Igolkin A., Varentsova A., Pershin A., Remyga S., Shevchenko I., Zhukov I., Sánchez-Vizcaíno J. M. Detection of African Swine Fever Antibodies in Experimental and Field Samples from the Russian Federation: Implications for Control. *Transbound. Emerg. Dis.* 2016; 63 (5):e436-40. DOI: 10.1111/tbed.12304.

38. Gallardo C., Soler A., Rodze I., Nieto R., Cano-Gómez C., Fernández-Pinero J., Arias M. Attenuated and non-haemadsorbing (non-HAD) genotype II African swine fever virus (ASFV) isolated in Europe, Latvia 2017. *Transbound. Emerg. Dis.* 2019; 66 (3): 1399–1404. DOI: 10.1111/tbed.13132.

39. Sun E., Zhang Z., Wang Z., He X., Zhang X., Wang L., et al. Emergence and prevalence of naturally occurring lower virulent African swine fever viruses in domestic pigs in China in 2020. *Sci. China. Life Sci.* 2021; 64 (5): 752–765. DOI: 10.1007/s11427-021-1904-4.

40. Nurmoja I., Petrov A., Breidenstein C., Zani L., Forth J. H., Beer M., et al. Biological characterization of African swine fever virus genotype II strains from north-eastern Estonia in European wild boar. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): 2034–2041. DOI: 10.1111/tbed.12614.

41. Fedoseyeva D. N., Aronova Ye. V., Varentsova A. A., Yelsukova A. A., Mazloun A., Sharypova D. V., et al. Analysis of monitoring studies on African swine fever virus DNA detection carried out in 2017. *Veterinary Science Today*. 2018; (3): 21–25. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-3-26-21-25.

Поступила в редакцию / Received 12.05.2022

Поступила после рецензирования / Revised 17.06.2022

Принята к публикации / Accepted 22.07.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шотин Андрей Романович, младший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Иголкин Алексей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий референтной лабораторией по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

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

Бардина Наталья Сергеевна, младший научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Морозова Елизавета Олеговна, аспирант, биолог референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Andrey R. Shotin, Junior Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Alexey S. Igolkin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

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

Natalia S. Bardina, Junior Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Elizaveta O. Morozova, Post-Graduate Student, Biologist, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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



Результаты экспериментального заражения вакцинированных и невакцинированных утят вирусом гепатита

А. А. Чеснокова¹, Е. В. Иванова², В. В. Пронин³, О. А. Чупина⁴, В. Ю. Фоменко⁵, М. С. Волков⁶, В. Н. Ирза⁷

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

¹ e-mail: chesnokova@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4464-8242>, e-mail: ivanova@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>, e-mail: pronin@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-6832-0348>, e-mail: chupina@arriah.ru

⁵ e-mail: fomenko@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-8819-0720>, e-mail: volkov_ms@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>, e-mail: irza@arriah.ru

РЕЗЮМЕ

В настоящее время такое высококонтагиозное заболевание, как вирусный гепатит утят, регистрируют во всех странах, где занимаются разведением уток. Данная инфекция включена в перечень notiфицируемых болезней Всемирной организации здравоохранения животных, при ее возникновении устанавливаются ограничительные мероприятия и проводится регионализация территории страны. В системе противоэпизоотических мероприятий ведущее место занимает своевременная вакцинация уток родительского стада с целью получения иммунного потомства. В условиях активного развития промышленного утководства и увеличения количества частных подворий растет необходимость в качественных и эффективных средствах профилактики данной инфекционной болезни. На территории Российской Федерации на сегодняшний день зарегистрирована одна отечественная вакцина производства ФГБУ «ВНИИЗЖ», которая выпускается в нативном виде и предназначена для парентерального применения. С целью увеличения срока годности препарата, а также для удобства его хранения и транспортировки ведутся работы по разработке вакцины против вирусного гепатита утят живой лиофилизированной. В статье представлены результаты изучения патогенеза вирусного гепатита утят и оценки эффективности и безвредности разрабатываемой вакцины. Проведенные после экспериментального заражения патоморфологические исследования свидетельствуют о том, что вирус гепатита утят оказывает патогенное действие не только на органы пищеварительной системы птиц, в частности на печень, но и вызывает дегенеративные изменения в центральных и периферических органах иммунной системы: в клоакальной бурсе, тимусе и железе третьего века, что может проявляться дефицитом В- и Т-клеточного звена иммунного ответа и требует дополнительного изучения. Показано, что при иммунизации утят в 3-суточном возрасте экспериментальный препарат индуцирует гуморальный иммунный ответ, введение десятикратной дозы не оказывает вредного воздействия на организм птиц и говорит о его безопасности, вакцина обеспечивает защиту от заражения контрольным вирулентным штаммом вируса гепатита.

Ключевые слова: вирусный гепатит утят, патогенез, контрольный штамм, титр вируса

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

Для цитирования: Чеснокова А. А., Иванова Е. В., Пронин В. В., Чупина О. А., Фоменко В. Ю., Волков М. С., Ирза В. Н. Результаты экспериментального заражения вакцинированных и невакцинированных утят вирусом гепатита. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 359–366. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-359-366.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Иванова Елизавета Викторовна, аспирант, ведущий ветеринарный врач лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: ivanova@arriah.ru.

Results of experimental infection of vaccinated and non-vaccinated ducklings with duck hepatitis virus

A. A. Chesnokova¹, E. V. Ivanova², V. V. Pronin³, O. A. Chupina⁴, V. Yu. Fomenko⁵, M. S. Volkov⁶, V. N. Irza⁷

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

¹ e-mail: chesnokova@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-4464-8242>, e-mail: ivanova@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-6240-3062>, e-mail: pronin@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-6832-0348>, e-mail: chupina@arriah.ru

⁵ e-mail: fomenko@arriah.ru

⁶ <https://orcid.org/0000-0002-8819-0720>, e-mail: volkov_ms@arriah.ru

⁷ <https://orcid.org/0000-0001-7489-1772>, e-mail: irza@arriah.ru

SUMMARY

Duck virus hepatitis, a highly contagious disease occurring in ducklings, is currently reported in all countries with duck breeding industry. This infection is included in the list of notifiable diseases of the World Organization for Animal Health, restrictive measures are established and the regionalization of the country's territory is carried out in case of its occurrence. Timely vaccination of parent flocks in order to obtain immune offspring takes a priority place in the system of anti-epidemic measures. Due to active development of duck breeding industry and increasing number of backyard farms, the need for high-quality and effective prevention tools for this infectious disease is growing. To date, one domestic native vaccine produced by FGBI "ARRIAH" and registered in the Russian Federation is available in native form and is intended for parenteral use. In order to extend the vaccine's shelf life and for storage and transportation convenience, a live freeze-dried vaccine against duck virus hepatitis is being developed. The paper presents results of studying the pathogenesis of duck virus hepatitis and evaluating the efficacy and safety of the vaccine under development. Pathomorphological studies carried out post experimental infection indicate that duck hepatitis virus induces pathogenic effect not only in birds' digestive organs (the liver, in particular) but also causes degenerative changes in central and peripheral immune organs: in cloacal bursa, thymus and third eyelid gland, that may be manifested as deficiency of B- and T-cell immunity and requires further studies. It has been shown that in case of immunization of 3-day-old ducklings, the experimental vaccine induces antibody-mediated immune response, no harmful effect is produced on poultry if a tenfold dose is administered which indicates its safety, and the vaccine ensures protection against infection with a control virulent strain of hepatitis virus.

Keywords: duck virus hepatitis, pathogenesis, control strain, virus titre

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

For citation: Chesnokova A. A., Ivanova E. V., Pronin V. V., Chupina O. A., Fomenko V. Yu., Volkov M. S., Irza V. N. Results of experimental infection of vaccinated and non-vaccinated ducklings with duck hepatitis virus. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 359–366. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-359-366.

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

For correspondence: Elizaveta V. Ivanova, Post-Graduate Student, Leading Veterinarian, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: ivanova@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Вирусный гепатит утят типа 1 (инфекционный гепатит уток) – высококонтагиозная, протекающая сверхостро у утят до 6-недельного возраста и латентно у уток болезнь с преимущественным поражением печени и высокой смертностью молодняка. Заболевание наносит значительный экономический ущерб утководческим хозяйствам, особенно промышленного типа, поскольку вызывает гибель утят 1–30-суточного возраста (летальность до 95%) и снижение продуктивности уток. Переболевшие утята отстают в росте и развитии, что ведет к частичной потере мясной продуктивности и ухудшению племенной работы. Вирусный гепатит утят регистрируется во многих европейских странах, в Юго-Восточной Азии, а также в Египте, США и Канаде. Ущерб от заболевания увеличивается за счет затрат на ограничительные мероприятия, нарушающие экономику хозяйства, особенно когда болезнь принимает стационарный характер [1–4]. Вирусный гепатит утят входит в перечень нотифицируемых болезней Всемирной организации здравоохранения животных [5], относится к карантинным инфекциям [6], по которым проводится регионализация территории страны [7].

Возбудителем заболевания является РНК-содержащий вирус из семейства *Picornaviridae*, рода *Avihepatovirus* [8], который на основании антигенных различий подразделяется на три типа. В настоящее время с помощью филогенетического анализа и те-

стов на нейтрализацию вирус гепатита утят типа 1 был классифицирован на 3 серотипа. В литературе вирус 1-го серотипа описывается как классический, он распространен по всему миру и оказывает наиболее значительное влияние на местную птицеводческую промышленность. Напротив, вирус гепатита утят 2-го серотипа был обнаружен только на Тайване, а возбудитель 3-го серотипа впервые был зарегистрирован в Южной Корее, а недавно выявлен в материковом Китае и во Вьетнаме [9–12].

В естественных условиях вирусным гепатитом могут болеть утята до 40-суточного возраста, но чаще болеет молодняк в 1–30-суточном возрасте. К вирусу гепатита утят типа 1 восприимчивы также гусята до 10–12-суточного возраста как при естественном, так и при искусственном заражении. Быстрое развитие возрастной невосприимчивости служит характерным свойством этой инфекции, то есть утята старших возрастов и утки клинически не болеют [3, 5]. Но начиная с декабря 2016 г. в Китае начали регистрировать случаи вирусного гепатита в популяциях уток-несушек, сопровождавшиеся резким падением яйценоскости [13]. Патогенез вирусного гепатита утят изучен недостаточно. Вирус гепатита попадает в организм утят различными путями. В естественных условиях заражение происходит горизонтальным путем, в основном через слизистые оболочки органов пищеварения и дыхания [11, 14]. Доказательств вертикальной передачи

патогена в настоящее время не имеется [15]. Вирус, внедрившись в организм, быстро размножается и гематогенным путем попадает во многие органы, в первую очередь в печень и головной мозг [16]. Гибель утят происходит в результате необратимых изменений в печени и других органах. Погибают, как правило, хорошо упитанные утята с проявлением признаков интоксикации. При хроническом течении вирусного гепатита изменения в органах носят тот же характер, но очаги некрозов в печени при этом более обширны [4, 17, 18].

Признаки болезни в основном однотипны: потеря аппетита, сонливость, малоподвижность; утята подолгу сидят, при движении нарушается координация (атаксия), иногда отмечают диарею, ринит, конъюнктивит; через 1–2 ч, реже через 5–6 ч с момента появления неврологических признаков, возникают судороги, при этом конечности вытягиваются вдоль туловища, птицы лежат на спине или боку с запрокинутой назад головой (опистотонус), совершают плавательные движения [14, 19]. После нескольких приступов судорог наступает смерть. Утята выздоравливают полностью редко, иногда болезнь принимает хроническое течение, при этом птица отстает в росте и развитии [2].

При вскрытии павших утят наиболее выраженные и характерные изменения наблюдают в печени, которая заметно увеличена в размере, охряно-желтого цвета, паренхима дряблой консистенции, легко разрушается под давлением, в большинстве случаев поверхность усеяна кровоизлияниями от точечных до пятнистых геморрагий. Желчный пузырь, как правило, переполнен желчью. Сердечная мышца в состоянии дистрофии, имеет вид вареного мяса, коронарные сосуды кровенаполнены, в перикардиальной полости нередко отмечают повышенное количество серозной жидкости [1, 2, 19].

К числу факторов передачи возбудителя инфекции относятся контаминированные вирусом корма, вода, подстилка, предметы ухода за птицей. В борьбе с вирусным гепатитом утят применяются такие меры, как карантинирование и дезинфекция [8].

Вследствие изменчивости и принадлежности возбудителя к различным серотипам эпизоотическая ситуация по вирусному гепатиту утят в промышленных утководческих хозяйствах остается сложной, однако болезнь можно эффективно предотвратить с помощью своевременной вакцинации взрослых уток с целью получения невосприимчивого потомства [20]. Для специфической профилактики заболевания во всем мире используются инактивированные и живые аттенуированные вакцины. Лидером в иммунопрофилактике вирусного гепатита утят живыми вакцинами является Китай [15]. На территории Российской Федерации на сегодняшний день зарегистрирована одна отечественная вакцина производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир), которая выпускается в нативном виде и предназначена для парентерального применения. С целью увеличения срока годности вакцины, а также для удобства ее хранения и транспортировки в настоящее время в учреждении разрабатывается вакцина против вирусного гепатита утят живая лиофилизированная.

Целью данной работы являлось изучение патогенеза вирусного гепатита утят в экспериментальных условиях, а также оценка эффективности и безвредности вакцины против вирусного гепатита утят живой лиофилизированной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Испытания по изучению патогенеза вирусного гепатита утят и эффективности вакцины против вирусного гепатита утят живой лиофилизированной проводили на базе лаборатории эпизоотологии и мониторинга, центра доклинических исследований и экспериментально-биологической лаборатории по работе с животными (виварный корпус) ФГБУ «ВНИИЗЖ» (г. Владимир).

В качестве объекта испытаний использовали утят 1–3-суточного возраста, выведенных в лабораторных условиях из яиц, полученных из ОАО Племрепродуктор «Зеленчукский» (Карачаево-Черкесская Республика), с нейтрализующей активностью антител в сыворотке крови к возбудителю вирусного гепатита утят не выше $3,0 \log_2$.

Утиные эмбрионы поступали в лабораторию на сроке инкубации 8 сут. Эмбрионы овоскопировали и выбраковывали непригодные. Инкубацию проводили при $(37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ и относительной влажности 80% до вывода утят.

Утят содержали в виварном комплексе в отдельном боксе группами в изолированных просторных клетках с решетчатым полом и индивидуальным освещением. Поение осуществлялось из автоматических поилок, кормление проводили два раза в сутки сухим комбикормом.

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

Для вакцинации утят использовали вакцину против вирусного гепатита утят живую лиофилизированную серии № 010820 экспериментальную, изготовленную в лаборатории эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ» по стандартной технологии. При производстве биопрепарата был использован вирус гепатита утят производственного штамма «ВГНКИ-К», полученный из Государственной коллекции штаммов и микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Утят иммунизировали в 3-суточном возрасте. Перед процедурой вакцинации во флакон с лиофилизированным препаратом вносили стерильный физиологический раствор до первоначального объема 3 см^3 . После ресуспендирования вакцину объединяли с необходимым объемом стерильного физиологического раствора из расчета 100 см^3 на 200 доз вакцины. Вакцину, предварительно разведенную 1:10 стерильным физиологическим раствором, вводили однократно в бедренную группу мышц в объеме $0,5 \text{ см}^3$.

Для определения титра антител в сыворотке после введения вакцины у утят проводили отбор крови на 7, 14 и 21-е сут после вакцинации методом тотального обескровливания. Титр определяли в реакции непрямой (пассивной) геммагглютинации (РНГА/РПГА) в круглодонных пластиковых планшетах для серологических реакций с использованием 1%-й взвеси эритроцитов петуха.

Для подготовки эритроцитарного антигена проводили центрифугирование вирусосодержащего материала, затем надосадочную жидкость смешивали

с 1%-й взвесью эритроцитов петуа и выдерживали эту смесь в холодильнике при температуре +4 °С в течение 24 ч для адсорбции вируса на поверхности эритроцитов.

После подготовки всех необходимых материалов в круглодонных пластиковых планшетах производили двукратные разведения исследуемых сывороток и в равном объеме добавляли в лунки приготовленный эритроцитарный антиген. Учет реакции проводили через 30 мин. Реакция считалась положительной при образовании «зонтика» на дне лунки (гемагглютинация). При отрицательной реакции эритроциты с адсорбированным антигеном оседали на дно лунки в виде «пуговки».

Для определения безвредности вакцины против вирусного гепатита утят живой лиофилизированной птицам вводили десятикратную дозу препарата. Для этого во флакон с лиофилизированной вакциной вносили стерильный физиологический раствор до первоначального объема. После ресуспендирования вакцину объединяли с необходимым объемом стерильного физиологического раствора из расчета 100 см³ на 200 доз вакцины. Неразведенную вакцину (десятикратную дозу) вводили утятам однократно в бедренную группу мышц в объеме 0,5 см³. Наблюдение за утятами проводили в течение 10 сут.

Для определения иммуногенности вакцины против вирусного гепатита утят живой лиофилизированной проводилось заражение птиц контрольным вирулентным штаммом «Орех», полученным из Государственной коллекции штаммов и микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ». Перед началом опыта утята были разделены на опытную и контрольную группы по 10 гол. в каждой, которые содержали в изолированных боксах. Утята опытной группы в 3-суточном возрасте были иммунизированы вакциной против вирусного гепатита

Таблица 1
Титр антител в РНГА в сыворотках крови утят, иммунизированных вакциной против вирусного гепатита утят живой лиофилизированной (n = 3)

Table 1
IHA antibody titre in sera of ducklings immunized with live freeze-dried vaccine against duck virus hepatitis (n = 3)

Сутки после иммунизации	Титр антител в РНГА, log ₂
0	1,80 ± 0,20
7	5,00 ± 0,18
14	6,00 ± 0,40
21	5,60 ± 0,40

Таблица 2
Иммуногенность вакцины против вирусного гепатита утят живой лиофилизированной

Table 2
Immunogenicity of live freeze-dried vaccine against duck virus hepatitis

Активность вируса гепатита утят штамма «Орех», Ig ЛД ₅₀ /0,5 см ³	Количество павших/выживших утят в группе	
	контрольная	опытная
2,0	10/10	2/10

утят живой лиофилизированной в дозе 0,5 см³. Утят контрольной группы не иммунизировали. Через 7 сут птиц обеих групп заразили внутримышечно в бедренную группу мышц вирусом контрольного штамма «Орех» с активностью 2,0 Ig ЛД₅₀/0,5 см³ в объеме 0,5 см³. Наблюдение проводили в течение 7 сут.

От павшей птицы отбирали патолого-анатомический материал. Через 7 сут после вакцинации от утят, которым вводили десятикратную иммунизирующую дозу при оценке ее влияния на организм, также был проведен отбор проб внутренних органов для сравнительного гистологического исследования.

Гистологическое исследование проводили на базе центра доклинических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Образцы органов были зафиксированы в 10%-м растворе нейтрального формалина. Для получения обзорных препаратов проводку материала осуществляли в гистопротессоре TLP-720 (MtPoint™, Россия), заливку парафином проводили на станции заливки ESD-2800 (MtPoint™, Россия), срезы толщиной 5–8 мкм готовили на ротационном полуавтоматическом микротоме RMD-3000 (MtPoint™, Россия), окрашивали гематоксилином и эозином в стейнере линейном автоматическом ALS-96 (MtPoint™, Россия).

Препараты исследовали с использованием микроскопа МИКМЕД-6 (АО «ЛОМО», Россия), измерение и фотодокументирование проводили с помощью видеокамеры EZISPM (Китай) и программного обеспечения TourView (Китай) на увеличении 100x и 400x. Калибровку измерительной шкалы видеокамеры осуществляли с помощью объект-микрометра проходящего света ОМП (АО «ЛОМО», Россия).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований сывороток крови, полученных от вакцинированных утят, представлены в таблице 1.

Как видно из представленных данных, экспериментальная вакцина индуцировала гуморальный иммунный ответ. Так, через неделю после вакцинации титр антител в РНГА был равен 5,00 ± 0,18 log₂. Наибольшего значения в 6,0 log₂ он достигал на 14-е сут после иммунизации, к 21-м сут происходило его незначительное снижение на 0,4 log₂.

При изучении безвредности вакцины птицам вводили десятикратную дозу препарата. В течение срока наблюдения (10 сут) все утята оставались живы, клинические признаки заболевания отсутствовали. Вскрытие птиц не показало наличия видимых патолого-анатомических изменений во внутренних органах. Это говорит о том, что введение повышенных доз вакцины не оказывает вредного воздействия на организм утят и свидетельствует о безопасности ветеринарного препарата.

При проведении опыта по определению иммуногенности вакцины после заражения утят опытной и контрольной групп вирусом контрольного патогенного штамма за птицей вели наблюдение в течение 7 сут.

Как видно из данных, представленных в таблице 2, экспериментальная лиофилизированная вакцина предохраняла от заболевания 80% вакцинированных утят при заражении вирусом контрольного штамма «Орех» с активностью 2,0 Ig ЛД₅₀/0,5 см³. При этом 2 утенка опытной группы и все птицы контрольной пали с характерными клиническими признаками заболевания.



Рис. 1. Опистотонус у птиц, павших после экспериментального заражения вирусом гепатита утят контрольного штамма «Орех»

Fig. 1. Opisthotonus in ducklings that died after experimental infection with the control "Orekh" strain of duck hepatitis virus



Рис. 2. Утенок, павший после экспериментального заражения вирусом гепатита утят контрольного штамма «Орех»

Fig. 2. Duckling that died after experimental infection with the control "Orekh" strain of duck hepatitis virus

Таким образом, титр поствакцинальных антител в $5,0 \log_2$ предохраняет 80% утят от заражения вирусом гепатита.

В ходе проведения опыта по изучению патогенеза вирусного гепатита утят после заражения птицы контрольным патогенным штаммом «Орех» у невакцинированных утят из контрольной группы наблюдали характерные клинические признаки. Болезнь характеризовалась резким началом и быстро прогрессировала.

При сохранении объема потребления корма и воды через 24–48 ч после инфицирования утята падали на бок или спину, вытягивали конечности вдоль туловища, запрокидывали головы назад, что может свидетельствовать об интоксикации организма вследствие патогенного действия вируса на печень и проявлении симптомокомплекса поражения центральной нервной системы. Через 1–3 ч после проявления клинических признаков утята в состоянии опистотонуса погибали (рис. 1).

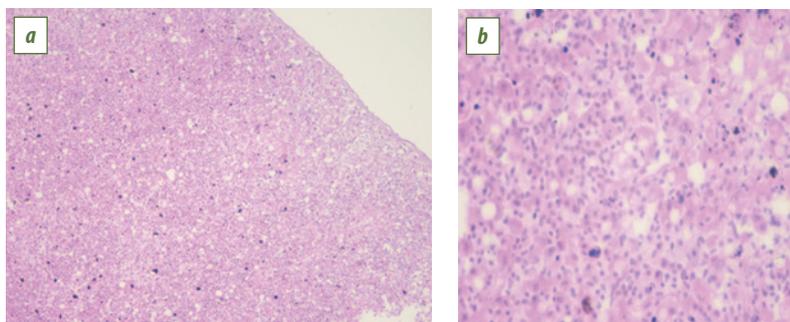


Рис. 3. Печень утенка, павшего после экспериментального заражения вирусом гепатита утят контрольного штамма «Орех»: а – увеличение 100х; б – увеличение 400х

Fig. 3. The liver of a duckling that died after experimental infection with the control "Orekh" strain of duck hepatitis virus: a – 100× magnification; b – 400× magnification

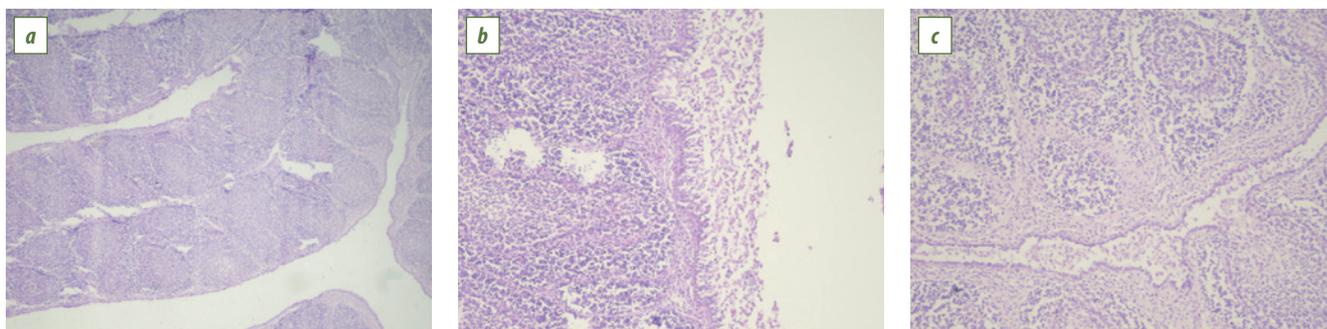


Рис. 4. Клоакальная бурса утенка, павшего после экспериментального заражения вирусом гепатита утят контрольного штамма «Орех»: а – увеличение 40х; б и с – увеличение 100х

Fig. 4. Cloacal bursa of a duckling that died after experimental infection with the control "Orekh" strain of duck hepatitis virus: a – 40× magnification; b and c – 100× magnification

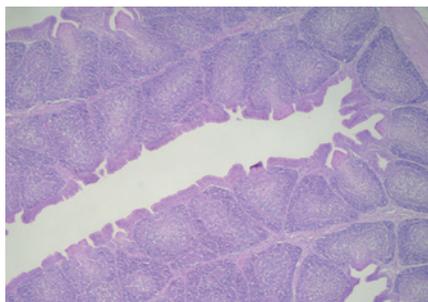


Рис. 5. Клоакальная bursa вакцинированного утенка после экспериментального заражения вирусом гепатита утят контрольного штамма «Орех» (увеличение 40×)

Fig. 5. Cloacal bursa of a vaccinated duckling after experimental infection with the control "Orekh" strain of duck hepatitis virus (40× magnification)

Все павшие утята при визуальном осмотре были хорошо развиты для своего возраста. При проведении вскрытия наиболее типичным и постоянным из обнаруженных признаков заболевания являлось поражение печени, которая была увеличенной, измененной окраски (желтовато-глинистого цвета), дряблой консистенции, при надавливании легко разрывалась. На поверхности и в паренхиме печени наблюдали мел-

кие точечные и пятнистые кровоизлияния (рис. 2). Выявляли незначительное увеличение селезенки и отек ткани поджелудочной железы.

При гистологическом исследовании печени павших утят обнаруживали диффузные кровоизлияния; нарушение балочного строения; крупнокапельную жировую дистрофию; макрофаги, фагоцитирующие апоптотические гепатоциты; гиперемии сосудов и синусоидных капилляров; некроз части гепатоцитов; многочисленные включения гемосидерина (рис. 3). В поджелудочной железе наблюдали картину застойной гиперемии и отека.

В бурсе обнаруживали тотальную лимфоцитарную депопуляцию; истончение складок; некроз эпителия складок; разрастание межфолликулярной соединительной ткани; в просвете между складками экссудат; отек межзачаточной ткани; граница между корковым и мозговым веществом была стерта (рис. 4).

При гистологическом исследовании клоакальной бурсы от вакцинированных утят (после заражения) наблюдали типичное фолликулярное ее строение с хорошо развитыми межфолликулярными стромальными перегородками, кортикулярными и мозговыми зонами (рис. 5). Складки хорошо выражены, в корковом слое определяются многочисленные скопления малых и средних лимфоцитов. Отмечали делимфатизацию мозгового вещества, что может быть связано

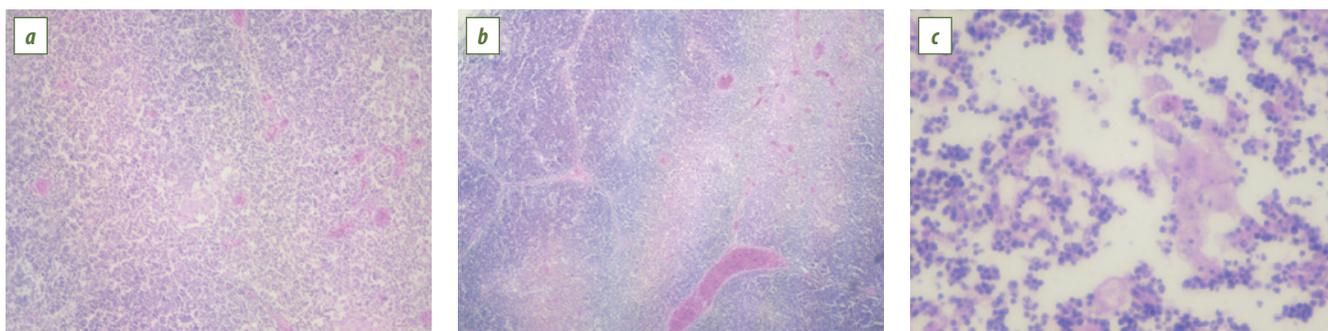


Рис. 6. Тимус утенка, павшего после экспериментального заражения вирусом гепатита утят контрольного штамма «Орех»; а и b – увеличение 100×; с – увеличение 400×

Fig. 6. Thymus of a duckling that died after experimental infection with the control "Orekh" strain of duck hepatitis virus: a and b – 100× magnification; c – 400× magnification

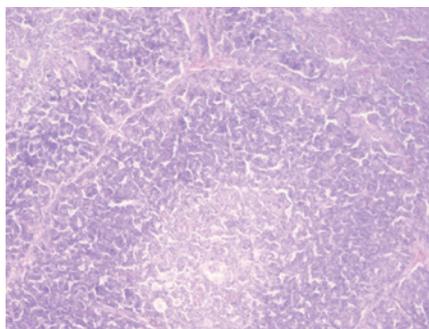


Рис. 7. Тимус вакцинированного утенка после экспериментального заражения вирусом гепатита утят контрольного штамма «Орех» (увеличение 40×)

Fig. 7. Thymus of a vaccinated duckling after experimental infection with the control "Orekh" strain of duck hepatitis virus (40× magnification)

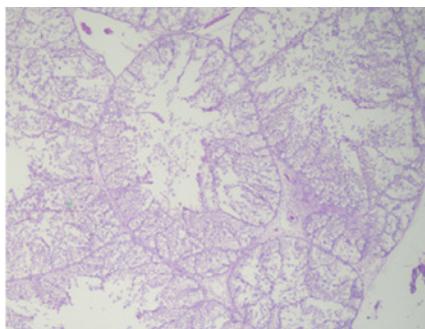


Рис. 8. Атрофия и клеточная депопуляция в железе третьего века павшего утенка

Fig. 8. Atrophy and cell depopulation in the third eyelid gland of a dead duckling

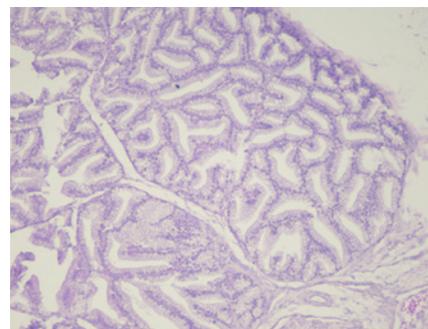


Рис. 9. Железа третьего века в норме
Fig. 9. Normal third eyelid gland

с иммунокомпетентными реакциями на вакцинацию и последующее заражение. В некоторых случаях граница между корковым и мозговым слоем фолликулов была стерта.

При гистологическом исследовании тимуса от павших утят установлено, что граница между корковым и мозговым веществом не выражена, тимоциты расположены рыхло. В мозговом веществе отмечено формирование телец Гассала (рис. 6). Напротив, в тимусе вакцинированных утят после заражения отклонений от нормы не наблюдали, при этом граница между корковым и мозговым веществом железы была хорошо выражена, площадь коркового вещества преобладала над мозговым (рис. 7).

Во время исследования железы третьего века у утят, зараженных патогенным штаммом, обнаружили атрофию и клеточную депопуляцию (рис. 8, 9).

Результаты патоморфологического исследования свидетельствуют о том, что вирус гепатита утят оказывает патогенное действие не только на органы пищеварительной системы птиц, в частности на печень, но и вызывает дегенеративные изменения в центральных и периферических органах иммунной системы: в клоакальной бурсе, тимусе и железе третьего века, что может проявляться дефицитом В- и Т-клеточного звена иммунного ответа и требует дополнительного изучения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований установлено, что вакцина против вирусного гепатита утят живая лиофилизированная является безвредной для утят при введении десятикратной дозы и обеспечивает их защиту от заражения контрольным вирулентным штаммом вируса гепатита.

Заражение невакцинированных птиц контрольным вирулентным вирусом гепатита утят вызывает появление характерных клинических признаков и патолого-анатомических изменений в органах павшей птицы, характерных для острой инфекции гепатита утят.

В результате изучения патоморфологических изменений в органах утят после заражения вирусом гепатита установлено его патогенное действие на ткани печени и органы иммунной системы, в частности на тимус, клоакальную бурсу и железу третьего века, которое выражалось акцидентальной инволюцией тимуса и депопуляцией лимфоцитов в клоакальной бурсе и железе третьего века.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вирусный гепатит утят (уток). В кн.: Князев В. П. *Болезни водоплавающих птиц*. Владимир; 2010; 70–87.
2. Контримавичус Л. М., Золотарев М. Г. Эпизоотические и клинико-морфологические данные по вирусному гепатиту утят. *Ветеринария*. 1965; 3: 44–46.
3. Леонов И. К. Биологические свойства вакцинных штаммов вируса гепатита утят типа I: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Санкт-Петербург; 2018. 23 с. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01008705025?page=1&rotate=0&theme=white>.
4. Паникар И. И. Вирусный гепатит утят и его профилактика. М.: Россельхозиздат; 1987. 64 с. Режим доступа: <https://www.booksite.ru/fulltext/1071341/text.pdf>.
5. Duck virus hepatitis. In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2018; Chapter 3.3.8: 882–894. Режим доступа: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.08_DVH.pdf.
6. Об утверждении перечня заразных, в том числе особо опасных, болезней животных, по которым могут устанавливаться ограничитель-

ные мероприятия (карантин): приказ Минсельхоза России от 19.12.2011 № 476. Режим доступа: https://rsnadzor.ru/f/perechen_476.pdf.

7. Ветеринарные правила проведения регионализации территории Российской Федерации: утверждены приказом Минсельхоза России от 14.12.2015 № 635. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/420325658>.

8. Adams M. J., King A. M., Carstens E. B. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2013). *Arch. Virol.* 2013; 158 (9): 2023–2030. DOI: 10.1007/s00705-013-1688-5.

9. Hisham I., Ellakany H. F., Selim A. A., Abdalla M. A. M., Zain El-Abideen M. A., Kilany W. H., et al. Comparative pathogenicity of duck hepatitis A virus-1 isolates in experimentally infected Pekin and Muscovy ducklings. *Front. Vet. Sci.* 2020; 7:234. DOI: 10.3389/fvets.2020.00234.

10. Levine P., Fabricant J. A hitherto-undescribed virus disease of ducks in North America. *Cornell. Vet.* 1950; 40: 71–86.

11. Liu R., Shi S., Huang Y., Chen Z., Chen C., Cheng L., et al. Comparative pathogenicity of different subtypes of duck hepatitis A virus in Pekin ducklings. *Vet. Microbiol.* 2019; 228: 181–187. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.11.030.

12. Niu Y., Ma H., Ding Y., Li Z., Sun Y., Li M., Shi Y. The pathogenicity of duck hepatitis A virus types 1 and 3 on ducklings. *Poult. Sci.* 2019; 98 (12): 6333–6339. DOI: 10.3382/ps/pez455.

13. Zhang R., Chen J., Zhang J., Yang Y., Li P., Lan J., et al. Novel duck hepatitis A virus type 1 isolates from adult ducks showing egg drop syndrome. *Vet. Microbiol.* 2018; 221: 33–37. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.05.023.

14. Fábriant J., Rickard C. G., Levine P. P. The pathogenicity of duck virus hepatitis. *Avian Dis.* 1957; 1 (3): 256–275. DOI: 10.2307/1587740.

15. Zhang R., Yang Y., Lan J., Xie Z., Zhang X., Jiang S. Evidence of possible vertical transmission of duck hepatitis A virus type 1 in ducks. *Transbound. Emerg. Dis.* 2021; 68 (2): 267–275. DOI: 10.1111/tbed.13708.

16. Безрукавая И. Ю. Вопросы механизма иммунитета при вирусном гепатите утят. *Научно-технический бюллетень Украинского НИИ птицеводства*. Харьков; 1980.

17. Pan M., Yang X., Zhou L., Ge X., Guo X., Liu J., et al. Duck hepatitis A virus possesses a distinct type IV internal ribosome entry site element of picornavirus. *J. Virol.* 2012; 86 (2): 1129–1144. DOI: 10.1128/JVI.00306-11.

18. Zhang H., Pi J., Tang C., Yue H., Yang F. An experimental study of the pathogenicity of a duck hepatitis A virus genotype C isolate in specific pathogen free ducklings. *Avian Pathol.* 2012; 41 (6): 613–620. DOI: 10.1080/03079457.2012.745641.

19. Бессарабов Б. Ф. Вирусный гепатит утят. В кн.: *Инфекционные болезни животных*. Б. Ф. Бессарабов, А. А. Вахутин, Е. С. Воронин и др. Под ред. А. А. Сидорчука. М.: КолосС; 2007; 572–575.

20. Аугустинавичус В., Лабутинас А. Эффективность вакцинации утят и уток против вирусного гепатита. *Труды Литовского научно-исследовательского института ветеринарии*. 1970; 4: 27–33.

REFERENCES

1. Viral hepatitis of ducks (ducks). In: Knyazev V. P. *Diseases of Waterfowl*. Vladimir; 2010; 70–87. (in Russ.)
2. Kontrimavichus L. M., Zolotarev M. G. *Jepizooticheskie i kliniko-morfologicheskie dannye po virusnomu gepatitu utjat = Epizootic, clinical and morphological data on duck virus hepatitis. Veterinariya*. 1965; 3: 44–46. (in Russ.)
3. Leonov I. K. Biological properties of duck virus hepatitis type I vaccine strains: author's abstract of Candidate of Science thesis (Veterinary Medicine). Saint-Petersburg; 2018. 23 p. Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01008705025?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
4. Panikar I. I. Duck virus hepatitis and its prevention. Moscow: Rossel'khozizdat; 1987. 64 p. Available at: <https://www.booksite.ru/fulltext/1071341/text.pdf>. (in Russ.)
5. Duck virus hepatitis. In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2018; Chapter 3.3.8: 882–894. Available at: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.08_DVH.pdf.
6. On approval of the list of contagious animal diseases, including highly dangerous animal diseases subjected to restrictions (quarantine): Order of the Ministry of Agriculture of Russia No. 476 of December 19, 2011. Available at: https://rsnadzor.ru/f/perechen_476.pdf. (in Russ.)
7. Veterinary regulations for the regionalization of the Russian Federation territory: approved by Order of the Ministry of Agriculture of Russia No. 635 of December 14, 2015. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/420325658>. (in Russ.)
8. Adams M. J., King A. M., Carstens E. B. Ratification vote on taxonomic proposals to the International Committee on Taxonomy of Viruses (2013). *Arch. Virol.* 2013; 158 (9): 2023–2030. DOI: 10.1007/s00705-013-1688-5.
9. Hisham I., Ellakany H. F., Selim A. A., Abdalla M. A. M., Zain El-Abideen M. A., Kilany W. H., et al. Comparative pathogenicity of duck hepatitis A virus-1 isolates in experimentally infected Pekin and Muscovy ducklings. *Front. Vet. Sci.* 2020; 7:234. DOI: 10.3389/fvets.2020.00234.

10. Levine P, Fabricant J. A hitherto-undescribed virus disease of ducks in North America. *Cornell. Vet.* 1950; 40: 71–86.
11. Liu R., Shi S., Huang Y., Chen Z., Chen C., Cheng L., et al. Comparative pathogenicity of different subtypes of duck hepatitis A virus in Pekin ducklings. *Vet. Microbiol.* 2019; 228: 181–187. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.11.030.
12. Niu Y., Ma H., Ding Y., Li Z., Sun Y., Li M., Shi Y. The pathogenicity of duck hepatitis A virus types 1 and 3 on ducklings. *Poult. Sci.* 2019; 98 (12): 6333–6339. DOI: 10.3382/ps/pez455.
13. Zhang R., Chen J., Zhang J., Yang Y., Li P., Lan J., et al. Novel duck hepatitis A virus type 1 isolates from adult ducks showing egg drop syndrome. *Vet. Microbiol.* 2018; 221: 33–37. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.05.023.
14. Fábriant J., Rickard C. G., Levine P. P. The pathology of duck virus hepatitis. *Avian Dis.* 1957; 1 (3): 256–275. DOI: 10.2307/1587740.
15. Zhang R., Yang Y., Lan J., Xie Z., Zhang X., Jiang S. Evidence of possible vertical transmission of duck hepatitis A virus type 1 in ducks. *Transbound. Emerg. Dis.* 2021; 68 (2): 267–275. DOI: 10.1111/tbed.13708.
16. Bezrukavaya I. Yu. Voprosy mekhanizma immuniteta pri virusnom gepatite utyat = Issues of duck virus hepatitis immunity mechanism. *Nauchno-tehnicheskii byulleten' of the Ukrainian Poultry Research Institute. Kharkiv*; 1980. (in Russ.)
17. Pan M., Yang X., Zhou L., Ge X., Guo X., Liu J., et al. Duck hepatitis A virus possesses a distinct type IV internal ribosome entry site element of picornavirus. *J. Virol.* 2012; 86 (2): 1129–1144. DOI: 10.1128/JVI.00306-11.
18. Zhang H., Pi J., Tang C., Yue H., Yang F. An experimental study of the pathogenicity of a duck hepatitis A virus genotype C isolate in specific pathogen free ducklings. *Avian Pathol.* 2012; 41 (6): 613–620. DOI: 10.1080/03079457.2012.745641.
19. Bessarabov B. F. Duck virus hepatitis. In: *Infectious animal diseases. B. F. Bessarabov, A. A. Vashutin, Ye. S. Voronin et al. Edited by A. A. Sidorchuk. Moscow: KolosS; 2007; 572–575.* (in Russ.)
20. Augustinavichus V., Labutinas A. Effektivnost' vaksinatсии utyat i utok protiv virusnogo gepatita = Efficacy of duck virus hepatitis vaccination in ducklings and ducks. *Trudy Litovskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta veterinarii.* 1970; 4: 27–33. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 05.05.2022

Поступила после рецензирования / Revised 10.06.2022

Принята к публикации / Accepted 22.07.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Чеснокова Александра Андреевна, аспирант, ведущий ветеринарный врач лаборатории эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Иванова Елизавета Викторовна, аспирант, ведущий ветеринарный врач лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Пронин Валерий Васильевич, доктор биологических наук, профессор, руководитель центра доклинических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Чупина Ольга Андреевна, кандидат биологических наук, заместитель руководителя центра доклинических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Фоменко Вадим Юрьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории эпизоотологии и мониторинга ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

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

Alexandra A. Chesnokova, Post-Graduate Student, Leading Veterinarian, Laboratory for Epizootology and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Elizaveta V. Ivanova, Post-Graduate Student, Leading Veterinarian, Laboratory for Avian Diseases Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Valery V. Pronin, Doctor of Science (Biology), Professor, Head of the Centre for Preclinical Tests, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Olga A. Chupina, Candidate of Science (Biology), Deputy Head of the Centre for Preclinical Tests, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

Vadim Yu. Fomenko, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for Epizootology and Monitoring, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

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



Иммунобиологические свойства инактивированных вакцин против высокопатогенного гриппа птиц, изготовленных на основе антигенов штаммов вируса гриппа подтипа А/Н5N1 различной вирулентности

С. В. Фролов¹, И. А. Чвала², Н. В. Мороз³, В. Ю. Кулаков⁴, В. Ю. Сосипаторова⁵, Д. Б. Андрейчук⁶

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

¹ <https://orcid.org/0000-0001-6802-9940>, e-mail: frolov@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, e-mail: chvala@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-9672-8594>, e-mail: moroz@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-1898-4576>, e-mail: kulakov@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-9376-4728>, e-mail: sosipatorova@arriah.ru

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

РЕЗЮМЕ

Антиген вируса низкопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма «Ямал» в составе инактивированной эмульгированной вакцины способен индуцировать выработку напряженного иммунитета у кур против высокопатогенного гриппа птиц. Инактивированные эмульсионные вакцины на основе антигена вируса низкопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма «Ямал» и антигена вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма A/chicken/Primorsky/85/08 способны вызывать дозозависимый перекрестный иммунитет в отношении актуальных вирусов высокопатогенного гриппа птиц подтипов H5N1 и H5N8. Так, для защиты 95% вакцинированной птицы прививная доза антигена вируса низкопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма «Ямал» против вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма A/chicken/Primorsky/85/08 в прививном объеме вакцины должна составлять не менее 609 ГАЕ и против вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N8 штамма A/duck/KChR/1590-20/20 – 255 ГАЕ. Аналогичный показатель, установленный для антигена вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма A/chicken/Primorsky/85/08 против вируса высокопатогенного гриппа птиц подтипа H5N8 штамма A/duck/KChR/1590-20/20, должен составлять не менее 294 ГАЕ. Протективный эффект испытанных инактивированных вакцин связан с напряженностью гуморального иммунитета птицы. Прогнозируемый титр антител к гомологичным антигенам, при котором ожидаемая защита вакцинированной птицы достигнет 95%, составил величину 1:538, или 9,1 log₂. Инактивированная вакцина против гриппа птиц H5 на основе антигена вируса низкопатогенного гриппа птиц подтипа H5N1 штамма «Ямал» обладает высокой иммуногенной активностью и защищает птиц при заражении вирусом высокопатогенного гриппа птиц подтипов H5N1 и H5N8.

Ключевые слова: инактивированная вакцина, антиген вируса низкопатогенного гриппа птиц, иммунитет, протективный титр антител, высокопатогенный грипп птиц подтипа H5

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

Для цитирования: Фролов С. В., Чвала И. А., Мороз Н. В., Кулаков В. Ю., Сосипаторова В. Ю., Андрейчук Д. Б. Иммунобиологические свойства инактивированных вакцин против высокопатогенного гриппа птиц, изготовленных на основе антигенов штаммов вируса гриппа подтипа А/Н5N1 различной вирулентности. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 367–374. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-367-374.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Мороз Наталья Владимировна, кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по производству, ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: moroz@arriah.ru.

Immunobiological properties of inactivated anti-highly pathogenic avian influenza vaccines based on antigens of A/H5N1 avian influenza virus strains of different virulence

S. V. Frolov¹, I. A. Chvala², N. V. Moroz³, V. Yu. Kulakov⁴, V. Yu. Sosipatorova⁵, D. B. Andreychuk⁶

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

¹ <https://orcid.org/0000-0001-6802-9940>, e-mail: frolov@arriah.ru

² <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>, e-mail: chvala@arriah.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-9672-8594>, e-mail: moroz@arriah.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-1898-4576>, e-mail: kulakov@arriah.ru

⁵ <https://orcid.org/0000-0001-9376-4728>, e-mail: sosipatorova@arriah.ru

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

SUMMARY

Antigen of H5N1 low pathogenic avian influenza virus Yamal strain included in the inactivated emulsion vaccine is able to induce strong immunity against highly pathogenic avian influenza in chickens. Inactivated emulsion vaccines based on antigen of H5N1 low pathogenic avian influenza virus Yamal strain and antigen of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus A/chicken/Primorsky/85/08 strain are capable of inducing dose-dependent cross immunity against current H5N1 and H5N8 highly pathogenic avian influenza viruses. Thus, inoculation dose of H5N1 low pathogenic avian influenza virus Yamal strain antigen required for protection of 95% of chickens against H5N1 highly pathogenic avian influenza virus A/chicken/Primorsky/85/08 strain and against H5N8 highly pathogenic avian influenza virus A/duck/KChR/1590-20/20 in the vaccine inoculation volume shall be at least 609 HAU and 255 HAU, respectively. The inoculation dose of H5N1 highly pathogenic avian influenza virus A/chicken/Primorsky/85/08 strain antigen for protection from H5N8 highly pathogenic avian influenza virus A/duck/KChR/1590-20/20 strain shall be at least 294 HAU. Protective effect of the tested inactivated vaccines was associated with humoral immunity level in poultry. Predicted titre of antibodies to homologous virus antigens conferring expected 95% protection of vaccinated poultry was 1:538 or 9.1 log₂. Inactivated vaccine based on H5N1 low pathogenic avian influenza virus Yamal strain antigen demonstrates its high immunogenicity in chickens infected with H5N1 and H5N8 highly pathogenic avian influenza influenza virus.

Keywords: inactivated vaccine, low pathogenic avian influenza (LPAI) virus antigen, immunity, protective antibody titre, H5 highly pathogenic avian influenza (HPAI)

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

For citation: Frolov S. V., Chvala I. A., Moroz N. V., Kulakov V. Yu., Sosipatorova V. Yu., Andreychuk D. B. Immunobiological properties of inactivated anti-highly pathogenic avian influenza vaccines based on antigens of A/H5N1 avian influenza virus strains of different virulence. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 367–374. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-367-374.

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

For correspondence: Natalya V. Moroz, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Production, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: moroz@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Возбудителем высокопатогенного гриппа птиц (ВГП) является РНК-содержащий вирус, относящийся к семейству *Orthomyxoviridae*, роду *Alphainfluenzavirus*, а также его серотипы H5 и H7 независимо от их патогенности. Обладая фрагментированным геномом, агент способен к многообразным генетическим перестройкам, которые на уровне фенотипа проявляются изменениями как антигенных, так и вирулентных свойств. Иные подтипы вируса вызывают низкопатогенный грипп птиц (НГП), не подлежащий уведомлению Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ) [1].

Вирус гриппа А отличается высокой степенью варибельности, особенно это касается поверхностных гликопротеинов вириона: HA и NA. Установлено, что антитела хозяина к HA и NA обеспечивают основу гуморального иммунитета, при этом ведущую роль играют протективные антитела к HA. Известно 18 антигенных подтипов HA (H1–H18) и 11 подтипов NA (N1–N11). Вирус гриппа обладает сегментированным геномом, состоящим из 8 сегментов, которые обладают высокой способностью к реассортации [2, 3].

Различные комбинации HA и NA способны привести к появлению высоковирулентных штаммов вируса, становящихся причиной высокого уровня смертности. В настоящее время наблюдается распространение ВГП, вызванного вирусом типа А подтипа H5, на территории Евразии. Считается, что этот подтип является одним из наиболее опасных в плане возникновения пандемий [4].

Вирусы НГП подтипа H5 показывают практически одинаково низкую патогенность в эксперименталь-

ных условиях при тестировании с помощью IVPI (Intravenous Pathogenicity Index), однако в полевых условиях они часто вызывают заболеваемость и смертность от средней до высокой степени [5].

При сравнении выделенных изолятов вируса гриппа птиц обнаруживается чрезвычайно высокая их генетическая и антигенная варибельность. Это обстоятельство вынуждает вести постоянный поиск новых изолятов вируса гриппа птиц, пригодных для изготовления диагностических и вакцинных препаратов [5, 6].

Высокопатогенный грипп птиц протекает в острой и сверхострой формах, вызывая гибель до 100% поголовья, и способен к эпизоотическому распространению.

Значимый экономический ущерб, причиняемый заболеванием, обуславливает необходимость разработок средств специфической профилактики заболевания, и до настоящего времени наиболее эффективными являются инактивированные цельновирионные вакцины [7].

Исследования эффективности инактивированных вакцин на основе как высоко-, так и низкопатогенных вирусов показывают, что их протективная способность зависит от двух (возможно, взаимодополняющих) факторов: антигенного соответствия между заражающим и вакцинным вирусами [8–10] и величины прививной дозы антигена в вакцине [10–13]. При этом использование для производства инактивированных вакцин штаммов вируса ВГП не рекомендуется ВОЗЖ по причине их эпизоотической опасности [1] и в связи с низким накоплением вирусного антигена в системе культивирования [14].

Большинство ученых доказывают, что для эффективной иммунизации против гриппа птиц требуется использовать антигенно родственные вирусы в составе вакцин [7, 15, 16].

Данные научных публикаций по эффективности вакцин в отношении гетерологичных (принадлежащих к разным генетическим линиям в пределах одного подтипа) вирусов носят противоречивый характер. Так, учеными из США с использованием разнообразных методов было установлено, что инактивированные вакцины на основе цельного вируса подтипа H5 на 100% защищали цыплят от гибели при заражении гетерологичными вирулентными вирусами подтипов H5N8 и H5N2 кланды 2.3.4.4 [15].

Основываясь на результатах перекрестной реакции гемагглютинации, другие исследователи установили, что вакцины на основе высоковирулентных вирусов H5N1 обладают разной протективной активностью в отношении вирулентного вируса [16]. Российские ученые указывали, что решающую роль в обеспечении эффективности вакцины играет концентрация антигена вируса гомологичного подтипа, и высоковирулентные вирусы H5 не всегда эффективны в качестве вакцинных штаммов из-за их низкого накопления в системе культивирования [14].

К иммуногенности вакцин против гриппа птиц ВОЗЖ также предъявляет соответствующие требования, главными из которых являются концентрация антигена в прививной дозе и титры поствакцинальных антител. Так, рекомендуемая концентрация антигена в прививной дозе вакцины должна составлять 50 ПД₅₀ (50%-я протективная доза) или 3 мкг гемагглютинирина [17]. Минимальный титр антигемагглютинирующих антител у цыплят в полевых условиях должен быть 1:32 для защиты птицы от гибели и не ниже 1:128 для обеспечения снижения размножения вирулентного вируса и его выделения во внешнюю среду [1].

Целью настоящей работы являлось изучение иммуногенных свойств инактивированных антигриппозных вакцин на основе разных антигенов против актуальных высоковирулентных вариантов вируса гриппа птиц подтипа H5.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Высоковирулентные штаммы вируса гриппа птиц: подтип H5N1 A/chicken/Primorsky/85/08, кланды 2.3.2 (в тексте – ВГП H5N1 штамм Приморский); подтип H5N8 A/duck/KChR/1590-20/20, кланды 2.3.4.4 (в тексте – ВГП H5N8 штамм КЧР).

Низковирулентный штамм вируса гриппа птиц: производственный штамм «Ямал», подтип H5N1 (в тексте – НГП H5N1 штамм Ямал).

Вирусные материалы. Сохраняемые при минус 70 °С образцы вируссодержащей экстраэмбриональной жидкости (ЭЭЖ) после расплодок на СПФ-эмбрионах кур. Перед использованием в экспериментах ЭЭЖ осветляли центрифугированием при 1000 g.

Эмбрионы кур. Использовали развивающиеся 9–11-суточные эмбрионы кур категории СПФ (VALO BioMedia GmbH, Германия).

Определение инфекционного титра вируса. Применяли метод последовательных кратных разведений вирусного материала. В качестве чувствительных тест-объектов использовали СПФ-эмбрионы кур. Инфекционный материал вводили в аллантоисную полость.

Величину инфекционного титра вычисляли по Керберу и выражали в ЭИД₅₀.

Вирусные антигены. Для изготовления антигенов использовали осветленные вирусные материалы штаммов ВГП H5N1 штамм Приморский и НГП H5N1 штамм Ямал, полученные после культивирования в развивающихся куриных эмбрионах, инактивированные аминоэтилэтиленимином (0,25%) в течение 24 ч при температуре 22 °С. Полноту инактивации вируса определяли проведением двух последовательных пассажей на СПФ-эмбрионах кур. Титр антигена определяли в реакции гемагглютинации (РГА) и выражали в гемагглютинирующих единицах (ГАЕ).

Вакцины. На основе вирусных антигенов и масляного адьюванта готовили эмульсионные вакцины. Каждый антиген был приготовлен в нескольких разведениях. Масляный адьювант Montanide ISA 70 (SEPPIC, Франция) использовали в соотношении антигенсодержащей фазы и масла 30:70 (по весу). При приготовлении вакцин активный компонент (антиген) объединяли с масляным адьювантом и эмульгировали на высокоскоростном лабораторном эмульсоре Silverson (Великобритания) при скорости 6000 об/мин в течение 5 мин. В результате были получены образцы эмульсионной вакцины с заданной концентрацией антигена.

Птица. В эксперименте использовали цыплят яичного кросса ломан браун в возрасте 3–4 недели, серонегативных к вирусу гриппа птиц, из хозяйства, благополучного по острым инфекционным болезням.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственным стандартом по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014, принятым Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

Иммунизация птиц. Каждый образец вакцины (с заданной концентрацией антигена) был введен отдельной группе птиц внутримышечно в объеме 0,5 см³ в область бедра. Кроме этого, были сформированы контрольные группы невакцинированных птиц.

Оценка напряженности поствакцинального гуморального иммунитета. Через 28 сут после вакцинации у иммунизированных и контрольных птиц отбирали пробы крови для получения сывороток, в которых с применением реакции торможения агглютинации (РТГА) определяли титр антител к вирусу гриппа.

Заражение птиц. Вирус ВГП в дозе не менее 6,0 Ig вводили вакцинированным и контрольным птицам внутримышечно в объеме 0,5 см³ в область бедра.

Оценка протективного эффекта вакцины. Через 28 сут после иммунизации цыплят всех групп заражали и регистрировали клиническое состояние птиц и летальное действие вируса.

Реакция гемагглютинации. Использовали стандартный вариант РГА. В тестируемом материале определяли титр гемагглютинирующих единиц.

Реакция торможения гемагглютинации. Использовали стандартный вариант РТГА. Постановку реакции проводили в соответствии с инструкцией к набору для выявления антител к вирусу гриппа птиц подтипа H5 в реакции торможения гемагглютинации (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия). В тестируемой сыворотке

крови определяли титр антител к вирусу гриппа, блокирующих гемагглютинирующий эффект.

Растворы. Разведения вирусных материалов и антигенов выполняли на 0,9%-м растворе натрия хлорида (физиологическом растворе). При постановке РГА и РТГА использовали растворы, предусмотренные соответствующими инструкциями.

Обработка данных. Использовали стандартные методы статистической обработки выборок варьирующих переменных [18], а также элементы корреляционно-регрессионного анализа [19]. Вычислительные операции и графические построения выполняли с использованием приложения Microsoft Excel.

План исследований. Оценивали иммунологические свойства двух инактивированных эмульсионных вакцин:

– вакцина (НП) на основе антигена вируса НГП H5N1 штамма Ямал. Инфекционная активность вирусного материала до инактивации составляла $9,6 \text{ Ig ЭИД}_{50}/\text{см}^3$. Инактивированный материал содержал $10 \log_2 \text{ ГАЕ}/0,1 \text{ см}^3$ ($10 \cdot 240 \text{ ГАЕ}/\text{см}^3$). Испытывали образцы, имеющие относительную концентрацию антигена (D): 1; 1/25; 1/50 и 1/100;

– вакцина (ВП) на основе антигена вируса ВГП H5N1 штамма Приморский. Инфекционная активность

вирусного материала до инактивации составляла $9,2 \text{ Ig ЭИД}_{50}/\text{см}^3$. Инактивированный материал содержал $9 \log_2 \text{ ГАЕ}/0,1 \text{ см}^3$ ($5120 \text{ ГАЕ}/\text{см}^3$). Испытывали образцы, приготовленные по аналогии с вакциной НП.

Провели два эксперимента (I, II), в которых исследовали разные комбинации вакцин и вирусов-пробойников.

Эксперимент I. Образцами препарата НП, имеющими заданное содержание антигена, иммунизировали четыре группы птиц по 20 гол. в каждой. Группу из 10 гол. не вакцинировали и содержали в качестве контроля. Через 28 сут после вакцинации у всех птиц произвели отбор проб крови и провели контрольное заражение вирусом ВГП H5N1 штамма Приморский в дозе $6,0 \text{ Ig ЭИД}_{50}$ (вирус-пробойник). В течение 10 сут после контрольного заражения ежедневно проводили клинический осмотр птиц. Регистрировали клиническое проявление гриппа и гибель заболевших особей.

Эксперимент II. Образцами препарата НП иммунизировали четыре группы птиц по 9 гол. в каждой. Группу из 10 гол. не вакцинировали и содержали в качестве контроля. Через 28 сут после вакцинации у всех птиц произвели отбор проб крови и провели контрольное заражение вирусом ВГП H5N8 штамма КЧР в дозе $6,7 \text{ Ig ЭИД}_{50}$ (вирус-пробойник). Дальнейшие процедуры выполняли по аналогии с экспериментом I.

Образцами препарата ВП, имеющими заданное содержание антигена, иммунизировали четыре группы птиц по 10 гол. в каждой. Группу из 10 гол. не вакцинировали и содержали в качестве контроля. Через 28 сут после вакцинации у всех птиц произвели отбор проб крови и провели контрольное заражение вирусом ВГП H5N8 штамма КЧР в дозе $6,7 \text{ Ig ЭИД}_{50}$ (вирус-пробойник). Дальнейшие процедуры выполняли по аналогии с экспериментом I.

Иммунизирующая (прививная) доза антигена. Прививную дозу антигена (А) вычисляли в ГАЕ соответственно доле антигена (1/3) в прививном объеме препарата ($0,5 \text{ см}^3$), его содержанию в исходном материале ($A_0, \text{ ГАЕ}/0,1 \text{ см}^3$) и заданной относительной концентрации (D). Расчет выполняли по формуле $A = (0,5/3) \times (A_0/D)$, $\text{ ГАЕ}/0,5 \text{ см}^3$.

Индексы защиты. После заражения птиц в опытных и контрольных группах определяли индексы защиты (протективные индексы) вида $C = pr/n$, где pr – количество защищенных (выживших) особей; n – общее число птиц в данной группе.

Преобразование индексов защиты. Приняли, что в данной системе «доза – эффект» точкой симметрии распределения индексов защиты по параметру дозы антигена будет показатель 50%-го протективного эффекта ($C = 0,5$). На этом основании для приближения зависимости к линейному виду использовали логит-преобразование по Берксона [20, с. 267], позволяющее получить линейные эквиваленты индексов защиты вида $f = \log(C/(1 - C))$. Для значений $C = 1$, установленных для наименьшей испытанной дозы антигена, и значений $C = 0$, установленных для наибольшей дозы антигена, использовали условные оценки ' $C_1 = (1 - 1/5n)$ ' и ' $C_0 = 1/5n$ ' [21, с. 246]. Обратное преобразование эквивалентов выполняли по формуле $C = 1 - 1/(1 + (\text{antilg } f))$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первичные данные. Результаты, полученные в экспериментах в виде индексов защиты и соответствующих линейных эквивалентов, объединены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты контрольного заражения птиц вирусом ВГП подтипов H5N1 и H5N8, иммунизированных вакцинами на основе вирусных антигенов НГП H5N1 штамма Ямал и ВГП H5N1 штамма Приморский

Table 1

Results of challenge test of poultry immunized with the vaccines based on H5N1 LPAI virus Yamal strain antigen and based on H5N1 HPAI virus Primorsky strain antigen using H5N1 and H5N8 HPAI virus

Индексы защиты и их линейные эквиваленты, установленные соответственно испытанным прививным дозам иммунизирующего антигена в препарате				
Штамм-пробойник	Иммунизирующий антиген	Разведение антигена (D)	Индекс защиты ($C = pr/n$)*	Эквивалент индекса защиты $f = \log(C/(1 - C))$
ВГП H5N1 штамм Приморский	НГП H5N1 штамм Ямал	1	20/20 ($C_1 = 0,99$) [#]	1,996
		1/25	6/20 ($C = 0,3$)	-0,368
		1/50	5/20 ($C = 0,25$)	-0,477
	Контроль	–	0/10 ($C = 0$)	н/о
ВГП H5N8 штамм КЧР	НГП H5N1 штамм Ямал	1	9/9 ($C = 0,98$)	1,690
		1/25	9/9 ($C = 0,98$)	1,690
		1/50	6/9 ($C = 0,67$)	0,308
	1/100	5/9 ($C = 0,56$)	0,105	
Контроль	–	0/10 ($C = 0$)	н/о	
ВГП H5N8 штамм КЧР	ВГП H5N1 штамм Приморский	1	10/10 ($C = 0,98$) [#]	1,690
		1/25	8/10 ($C = 0,80$)	0,602
		1/50	4/10 ($C = 0,40$)	-0,176
	1/100	2/10 ($C = 0,20$)	-0,602	
Контроль	–	0/10 ($C = 0$)	н/о	

* $C = pr/n$, где pr – количество защищенных (выживших) особей;

n – общее число птиц в данной группе; [#] условная оценка ' $C_1 = (1 - 1/5n)$ '.

* $C = pr/n$, where pr – number of protected (survived) poultry;

n – total number of poultry in group; [#] estimate ' $C_1 = (1 - 1/5n)$ '.

Анализ зависимости оценок иммунной защиты птиц от величины разведения антигена. Исследовали связь между логарифмическими показателями испытанных разведений антигенов в составе вакцин (lgD) и эквивалентами индексов защиты (f). Провели регрессионный анализ, задачей которого являлось построение модели,

позволяющей прогнозировать значение "f для задаваемой величины lgD. Расчеты и графические построения выполняли с использованием приложения Excel.

Приведенные на рисунке 1 регрессионные уравнения были использованы для вычисления концентраций антигенов (разведений D₀), которые при данных

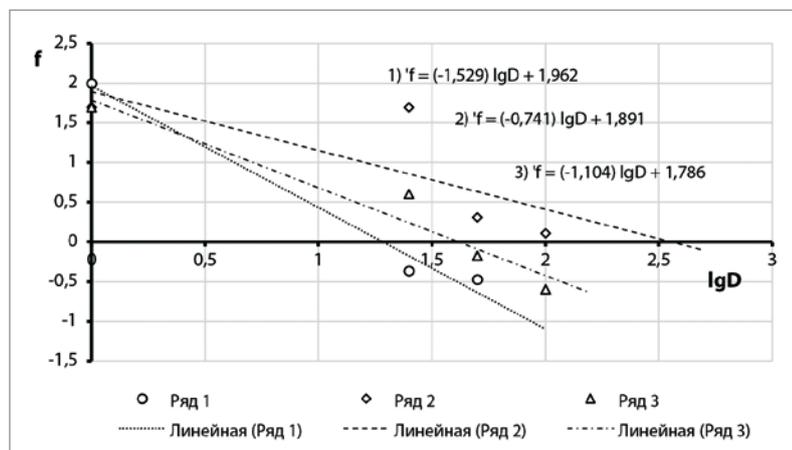


Рис. 1. Зависимость между испытанными разведениями антигенов (lgD) в составе вакцин и эквивалентами индекса защиты (f) иммунизированных птиц, установленных после контрольного заражения

Ось ординат пересечена в точке f = 0, соответствующей C = 0,5, т. е. 50% защиты. Показано положение экспериментальных оценок f по lgD. Приведены регрессионные уравнения вида 'f = k (lgD) – B, где 'f – ожидаемая величина эквивалента индекса защиты для заданного значения lgD; k и B – регрессионные коэффициенты. Показаны комбинации:

- 1) антиген НГП H5N1 штамм Ямал × вирус ВГП H5N1 штамм Приморский;
- 2) антиген НГП H5N1 штамм Ямал × вирус ВГП H5N8 штамм КЧР;
- 3) антиген ВГП H5N1 штамм Приморский × вирус ВГП H5N8 штамм КЧР.

Fig. 1. Relationship between tested antigen dilutions (lgD) included in the vaccines and protection index equivalents (f) of immunized poultry determined after challenge

The ordinate axis is crossed at the point f = 0, corresponding to C = 0.5, i.e. 50% protection. The positions of experimental estimates of f by lgD are shown. Regression equations of the form 'f = k (lgD) – B are given, where 'f is the expected equivalent of the protection index for given lgD; k and B are regression coefficients.

The following combinations are presented:

- 1) H5N1 LPAI virus Yamal strain antigen × H5N1 HPAI virus Primorsky strain;
- 2) H5N1 LPAI virus Yamal strain antigen × H5N8 HPAI virus KChR strain;
- 3) H5N1 HPAI virus Primorsky strain antigen × H5N8 HPAI KChR strain.

Таблица 2

Концентрации антигенов, обеспечивающих защиту 50% (D₅₀) и 95% (D₉₅) вакцинированных птиц, и соответствующие дозы ГАЕ (A₅₀ и A₉₅), установленные при данных условиях испытаний «иммунизирующий антиген × штамм-пробойник»

Table 2

Antigen concentration conferring protection to 50% (D₅₀) and 95% (D₉₅) of vaccinated poultry and corresponding numbers of HAU (A₅₀ and A₉₅), determined under given testing conditions: immunizing antigen × challenge virus strain

Иммунизирующий антиген × штамм-пробойник	lgD ₅₀ [*]	D ₅₀	A ₅₀ ^{**}	lgD ₉₅ [#]	D ₉₅	A ₉₅
НГП H5N1 штамм Ямал × ВГП H5N1 штамм Приморский	1,283	D ₀ /19,2	89	0,447	D ₀ /2,8	609
НГП H5N1 штамм Ямал × ВГП H5N8 штамм КЧР	2,555	D ₀ /359	5	0,828	D ₀ /6,7	255
ВГП H5N1 штамм Приморский × ВГП H5N8 штамм КЧР	1,617	D ₀ /41,4	21	0,459	D ₀ /2,9	294

Расчеты концентрации антигенов проведены по уравнениям вида 'f = k (lgD) – B, где 'f – ожидаемая величина эквивалента индекса защиты для заданного lgD; k и B – регрессионные коэффициенты.

* логарифм разведения цельного антигена для f₅₀ = 0 (lgD₅₀ = B/-k);

** A = (0,5/3) × (A₀/D), где A – количество ГАЕ в прививном объеме вакцины для данного разведения антигена (D) и количество ГАЕ в неразведенном антигене (A₀); # логарифм разведения цельного антигена для f₉₅ = 1,279 (lgD₉₅ = (B – 1,279)/-k).

The antigen concentration was calculated using the following equation: 'f = k (lgD) – B,

where 'f – expected equivalent of protection index for given lgD; k and B – regression coefficients.

* logarithm of undiluted antigen dilution for f₅₀ = 0 (lgD₅₀ = B/-k);

** A = (0,5/3) × (A₀/D), where A – number of HAU in the vaccine inoculation volume for given antigen dilution (D) and HAU number in undiluted antigen (A₀);

logarithm of undiluted antigen dilution for f₉₅ = 1.279 (lgD₉₅ = (B – 1.279)/-k).

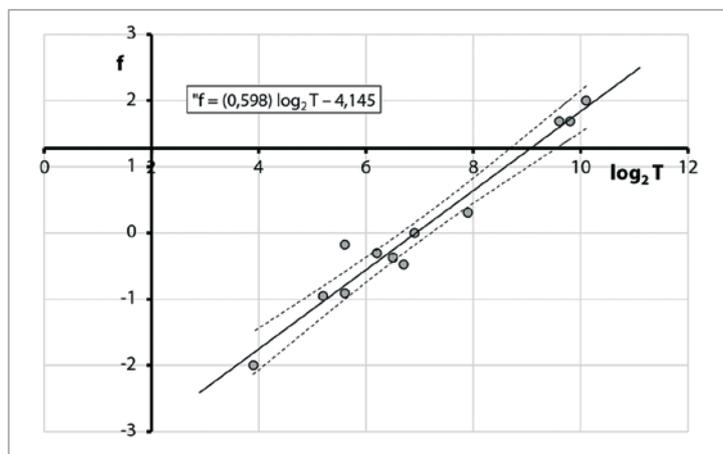


Рис. 2. Зависимость между средним логарифмическим титром антител ($\log_2 T$) и эквивалентом индекса защиты (f) у птиц, иммунизированных вакциной на основе антигена вируса НГП H5N1 штамма Ямал и вакциной на основе антигена вируса ВГП H5N1 штамма Приморский

Ось ординат пересечена в точке $f = 1,279$, соответствующей $C = 0,95$, т. е. 95% защиты. Приведено регрессионное уравнение вида $f = (0,598) \log_2 T - 4,145$, где f – ожидаемая величина эквивалента для заданного $\log_2 T$. Пунктиром показаны границы доверительного интервала ($p = 0,05$) регрессии.

Fig. 2. Relationship between logarithmic mean antibody titre ($\log_2 T$) and equivalent of protection index (f) in poultry immunized with vaccine based on H5N1 LPAI Yamal strain antigen and H5N1 HPAI Primorsky strain antigen

The ordinate axis is crossed at the point $f = 1.279$, corresponding to $C = 0.95$, i.e. 95% protection. Regression equation of the form $f = (0.598) \log_2 T - 4.145$ is given, where f – expected equivalent for given $\log_2 T$. The dashed line shows the boundaries of the confidence interval ($p = 0.05$) of the regression.

условиях испытаний обеспечивали защиту 50% ($\lg D_{50} = B/k$) и 95% ($\lg D_{95} = (B - f_{95})/k$) вакцинированных птиц. Для установленных значений D_{50} и D_{95} были определены соответствующие дозы ГАЕ в прививном объеме вакцины (A_{50} и A_{95}). Результаты проведенных расчетов представлены в таблице 2.

Анализ зависимости эквивалентов индексов защиты от напряженности поствакцинального гуморального иммунитета. Оценкой напряженности поствакцинального гуморального иммунитета считали средний логарифмический титр антител ($\log_2 T$), установленный соответственно известному f -показателю в группе вакцинированных птиц через 28 сут после иммунизации вакцинами с различными разведениями антигенов. Результаты, определенные для указанных условий, представлены в таблице 3.

Изучали связь между показателями гуморальной иммунной реакции ($\log_2 T$) и эквивалентами индексов защиты (f). Для построения модели связи в системе « $\log_2 T - f$ » использовали регрессионный метод. Полученные результаты приведены на рисунке 2.

Приведенное уравнение вида

$$f = (0,598) \log_2 T - 4,145$$

позволило определить прогнозируемый титр антител, при котором ожидаемая защита вакцинированной птицы достигнет 95% ($f_{95} = 1,279$). Искомое значение составило $\log_2 T_{95} = (4,145 + 1,279)/0,598 = 9,07$, или $T = 538$. Границы доверительного интервала ($p = 0,05$) указанной оценки составили $8,67 \leq \log_2 T_{95} \leq 9,60$, или $407 \leq T_{95} \leq 776$.

Таблица 3
Результаты РТГА с сыворотками крови, полученными от птиц, привитых вакцинами на основе антигена вируса НГП H5N1 штамма Ямал и антигена вируса ВГП H5N1 штамма Приморский, и гомологичными антигенами

Table 3
HI tests of sera collected from poultry immunized with the vaccines based on H5N1 LPAI virus Yamal strain antigen and H5N1 HPAI virus Primorsky strain antigen against homologous virus antigens

Средние титры антител ($\log_2 T$, $n \geq 3$), установленные соответственно испытанным антигенам и эквивалентам индексов защиты (f) птиц после контрольного заражения

Антиген	$\log_2 T$	f
НГП H5N1 штамм Ямал	$10,1 \pm 0,4$	1,996
	$6,9 \pm 0,4$	-0,368
	$6,7 \pm 0,5$	-0,477
	$3,9 \pm 0,6$	-1,996
	$9,6 \pm 0,5$	1,690
	$7,9 \pm 0,6$	0,308
	$6,2 \pm 0,4$	-0,308
ВГП H5N1 штамм Приморский	$5,6 \pm 0,4$	-0,908
	$9,8 \pm 0,4$	1,690
	$6,5 \pm 0,5$	0,000
	$5,2 \pm 0,5$	-0,954

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Антиген вируса низкопатогенного гриппа птиц штамма Ямал подтипа H5N1 в составе инактивированной эмульгированной вакцины способен индуцировать выработку напряженного иммунитета у кур против высокопатогенного гриппа птиц. На основании результатов, полученных в ходе проведенных исследований, были сделаны следующие выводы:

– инактивированная вакцина на основе антигена вируса НГП H5N1 штамма Ямал способна вызывать перекрестный иммунитет против вируса ВГП H5N1 штамма Приморский. В эксперименте препарат был способен обеспечить протективный эффект у 100% вакцинированных птиц. Использованный в препарате антиген содержал против гетерологичного вируса $19,2 D_{50}$. Для защиты 95% иммунизированной птицы прогнозируемая доза антигена в прививном объеме вакцины должна составлять не менее 609 ГАЕ;

– инактивированная вакцина на основе антигена вируса НГП H5N1 штамма Ямал способна вызывать перекрестный иммунитет против вируса ВГП H5N8 штамма КЧР. В эксперименте препарат был способен обеспечить протективный эффект у 100% вакцинированных птиц. Использованный в препарате антиген содержал против гетерологичного вируса $359 D_{50}$. Для защиты 95% иммунизированной птицы прогнозируемая доза антигена в прививном объеме вакцины должна составлять не менее 255 ГАЕ;

– инактивированная вакцина на основе антигена вируса ВГП H5N1 штамма Приморский способна вызывать перекрестный иммунитет против вируса ВГП H5N8

штамма КЧР. В эксперименте препарат был способен обеспечить протективный эффект у 100% вакцинированных птиц. Исползованный в препарате антиген содержал против гетерологичного вируса 41,4 D₅₀. Для защиты 95% иммунизированной птицы прогнозируемая доза антигена в прививном объеме вакцины должна составлять не менее 294 ГАЕ;

– протективный эффект испытанных инактивированных вакцин связан с напряженностью гуморального иммунитета птицы. Прогнозируемый титр антител, при котором ожидаемая защита вакцинированной птицы достигнет 95%, составил "Т₉₅ = 538. Границы доверительного интервала ($p = 0,05$) указанной оценки имели вид 407 ≤ "Т₉₅ ≤ 776. Показатель "Т₉₅ может быть полезен для опосредованной оценки напряженности поствакцинального иммунитета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Avian influenza (including infection with pathogenicity avian influenza viruses). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.3.4. Режим доступа: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf (дата обращения: 28.02.2022).
2. Зиняков Н. Г., Андриясов А. В., Овчинникова Е. В., Козлов А. А., Жестков П. Д., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Анализ маркерных замен изолята вируса гриппа A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8, выделенного на территории Астраханской области. *Ветеринария сегодня*. 2021; (2): 132–137. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-132-137.
3. Zecchin B., Goujgoulova G., Monne I., Salviato A., Schivo A., Slavcheva I., et al. Evolutionary dynamics of H5 highly pathogenic avian influenza viruses (clade 2.3.4.4B) circulating in Bulgaria in 2019–2021. *Viruses*. 2021; 13 (10):2086. DOI: 10.3390/v13102086.
4. World Health Organization. Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza A viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness = Caractéristiques génétiques et antigéniques des virus grippaux A zoonotiques et mise au point de virus vaccinaux candidats pour se préparer à une pandémie. *Weekly Epidemiological Record = Relevé épidémiologique hebdomadaire*. 2021; 96 (12): 88–104. Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/340335>.
5. Tian J., Li M., Bai X., Li Y., Wang X., Wang F., et al. H5 low pathogenic avian influenza viruses maintained in wild birds in China. *Vet. Microbiol.* 2021; 263:109268. DOI: 10.1016/j.vetmic.2021.109268.
6. Акшалова П. Б., Зиняков Н. Г., Андриясов А. В., Жестков П. Д., Никонова З. Б., Колосов С. Н., Чвала И. А. Генетический анализ нуклеотидных последовательностей гена нейраминидазы изолятов вируса высокопатогенного гриппа птиц A/H5N8, выделенных на территории Российской Федерации в 2020 году. *Ветеринария сегодня*. 2021; (10 (4)): 301–307. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-301-307.
7. Brugh M., Beard C. W., Stone H. D. Immunization of chickens and turkeys against avian influenza with monovalent and polyvalent oil emulsion vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 1979; 40 (2): 165–169. PMID: 464352.
8. Lee C. W., Senne D. A., Suarez D. L. Effect of vaccine use in the evolution of Mexican lineage H5N2 avian influenza virus. *J. Virol.* 2004; 78 (15): 8372–8381. DOI: 10.1128/JVI.78.15.8372-8381.2004.
9. Kayali G., Kandeil A., El-Shesheny R., Kayed A. S., Gomaa M. R., Kutkat M. A., et al. Do commercial avian influenza H5 vaccines induce cross-reactive antibodies against contemporary H5N1 viruses in Egypt? *Poult. Sci.* 2013; 92 (1): 114–118. DOI: 10.3382/ps.2012-02637.
10. Poetri O. N., Van Boven M., Koch G., Stegeman A., Claassen I., Wayan Wisaksana I., Bouma A. Different cross protection scopes of two avian influenza H5N1 vaccines against infection of layer chickens with a heterologous highly pathogenic virus. *Res. Vet. Sci.* 2017; 114: 143–152. DOI: 10.1016/j.rvsc.2017.04.005.
11. Lewis N. S., Banyard A. C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., et al. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. *Emerg. Microbes Infect.* 2021; 10 (1): 148–151. DOI: 10.1080/22221751.2021.1872355.
12. Shichinohe S., Okamatsu M., Yamamoto N., Noda Y., Nomoto Y., Honda T., et al. Potency of an inactivated influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against a challenge with antigenically drifted highly pathogenic avian influenza viruses in chickens. *Vet. Microbiol.* 2013; 164 (1–2): 39–45. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.01.041.
13. Swayne D. E., Lee C. W., Spackman E. Inactivated North American and European H5N2 avian influenza virus vaccines protect chickens from

Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza virus. *Avian Pathology*. 2006; 35 (2): 141–146. DOI: 10.1080/03079450600597956.

14. Ирза В. Н., Волков М. С., Варкентин А. В., Фролов С. В., Алтунин Д. А. Протективные свойства отечественных серийных и экспериментальных вакцин в отношении вирусов высоковирулентного гриппа птиц подтипов H5N1 и H5N8, изолированных в 2015–2016 гг. *Птица и птицепродукты*. 2017; 6: 12–18. eLIBRARY ID: 30731041.

15. Karczyski D. R., Pantin-Jackwood M. J., Spackman E., Chrzastek K., Suarez D. L., Swayne D. E. Homologous and heterologous antigenic matched vaccines containing different H5 hemagglutinins provide variable protection of chickens from the 2014 U.S. H5N8 and H5N2 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza viruses. *Vaccine*. 2017; 35 (46): 6345–6353. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.04.042.

16. Poetri O. N., Van Boven M., Koch G., Stegeman A., Claassen I., Wayan Wisaksana I., Bouma A. Different cross protection scopes of two avian influenza H5N1 vaccines against infection of layer chickens with a heterologous highly pathogenic virus. *Res. Vet. Sci.* 2017; 114: 143–152. DOI: 10.1016/j.rvsc.2017.04.005.

17. Swayne D., Sims L. Avian influenza. In: *Veterinary Vaccines: Principles and Applications*. Ed. by S. Metwally, G. Viljoen, A. El Idriissi. 1st ed. Chichester: John Wiley & Sons Limited; FAO; 2021; Chapter 18: 229–251. Режим доступа: <https://www.fao.org/3/cc2031en/cc2031en.pdf>.

18. Закс Л. Статистическое оценивание. М.: Статистика; 1976. 598 с.

19. Ферстер Э., Ренц Б. Методы корреляционного и регрессионного анализа. М.: Финансы и статистика; 1983. 304 с.

20. Ван дер Ваден Б. Л. Математическая статистика. М.: Издательство иностранной литературы; 1960. 434 с.

21. Урбах В. Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. М.: Медицина; 1975. 297 с.

REFERENCES

1. Avian influenza (including infection with pathogenicity avian influenza viruses). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.3.4. Available at: https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.04_AI.pdf (date of access: 28.02.2022).
2. Zinyakov N. G., Andriyasov A. V., Ovchinnikova Ye. V., Kozlov A. A., Zhestkov P. D., Andreychuk D. B., Chvala I. A. Analysis of marker substitutions in A/chicken/Astrakhan/2171-1/2020 H5N8 isolate of avian influenza virus recovered in the Astrakhan Oblast. *Veterinary Science Today*. 2021; (2): 132–137. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-132-137.
3. Zecchin B., Goujgoulova G., Monne I., Salviato A., Schivo A., Slavcheva I., et al. Evolutionary dynamics of H5 highly pathogenic avian influenza viruses (clade 2.3.4.4B) circulating in Bulgaria in 2019–2021. *Viruses*. 2021; 13 (10):2086. DOI: 10.3390/v13102086.
4. World Health Organization. Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza A viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness = Caractéristiques génétiques et antigéniques des virus grippaux A zoonotiques et mise au point de virus vaccinaux candidats pour se préparer à une pandémie. *Weekly Epidemiological Record = Relevé épidémiologique hebdomadaire*. 2021; 96 (12): 88–104. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/340335>.
5. Tian J., Li M., Bai X., Li Y., Wang X., Wang F., et al. H5 low pathogenic avian influenza viruses maintained in wild birds in China. *Vet. Microbiol.* 2021; 263:109268. DOI: 10.1016/j.vetmic.2021.109268.
6. Akshalova P. B., Zinyakov N. G., Andriyasov A. V., Zhestkov P. D., Nikonova Z. B., Kolosov S. N., Chvala I. A. Genetic analysis of nucleotide sequences of neuraminidase gene of highly pathogenic avian influenza A/H5N8 virus isolates recovered in the Russian Federation in 2020. *Veterinary Science Today*. 2021; (10 (4)): 301–307. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-301-307.
7. Brugh M., Beard C. W., Stone H. D. Immunization of chickens and turkeys against avian influenza with monovalent and polyvalent oil emulsion vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 1979; 40 (2): 165–169. PMID: 464352.
8. Lee C. W., Senne D. A., Suarez D. L. Effect of vaccine use in the evolution of Mexican lineage H5N2 avian influenza virus. *J. Virol.* 2004; 78 (15): 8372–8381. DOI: 10.1128/JVI.78.15.8372-8381.2004.
9. Kayali G., Kandeil A., El-Shesheny R., Kayed A. S., Gomaa M. R., Kutkat M. A., et al. Do commercial avian influenza H5 vaccines induce cross-reactive antibodies against contemporary H5N1 viruses in Egypt? *Poult. Sci.* 2013; 92 (1): 114–118. DOI: 10.3382/ps.2012-02637.
10. Poetri O. N., Van Boven M., Koch G., Stegeman A., Claassen I., Wayan Wisaksana I., Bouma A. Different cross protection scopes of two avian influenza H5N1 vaccines against infection of layer chickens with a heterologous highly pathogenic virus. *Res. Vet. Sci.* 2017; 114: 143–152. DOI: 10.1016/j.rvsc.2017.04.005.
11. Lewis N. S., Banyard A. C., Whittard E., Karibayev T., Al Kafagi T., Chvala I., et al. Emergence and spread of novel H5N8, H5N5 and H5N1 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza in 2020. *Emerg. Microbes Infect.* 2021; 10 (1): 148–151. DOI: 10.1080/22221751.2021.1872355.

12. Shichinohe S., Okamatsu M., Yamamoto N., Noda Y., Nomoto Y., Honda T., et al. Potency of an inactivated influenza vaccine prepared from a non-pathogenic H5N1 virus against a challenge with antigenically drifted highly pathogenic avian influenza viruses in chickens. *Vet. Microbiol.* 2013; 164 (1–2): 39–45. DOI: 10.1016/j.vetmic.2013.01.041.

13. Swayne D. E., Lee C.W., Spackman E. Inactivated North American and European H5N2 avian influenza virus vaccines protect chickens from Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza virus. *Avian Pathology.* 2006; 35 (2): 141–146. DOI: 10.1080/03079450600597956.

14. Irza V. N., Volkov M. S., Varkentin A. V., Frolov S. V., Altunin D. A. The protective features of domestic serial and experimental vaccines with regard to highly pathogenic avian influenza of H5N1 and H5N8 types isolated in 2015–2016. *Poultry & Chicken Products.* 2017; 6: 12–18. eLIBRARY ID: 30731041. (in Russ.)

15. Kapczynski D. R., Pantin-Jackwood M. J., Spackman E., Chrzastek K., Suarez D. L., Swayne D. E. Homologous and heterologous antigenic matched vaccines containing different H5 hemagglutinins provide variable protection of chickens from the 2014 U.S. H5N8 and H5N2 clade 2.3.4.4 highly pathogenic avian influenza viruses. *Vaccine.* 2017; 35 (46): 6345–6353. DOI: 10.1016/j.vaccine.2017.04.042.

16. Poetri O. N., Van Boven M., Koch G., Stegeman A., Claassen I., Wayan Wisaksana I., Bouma A. Different cross protection scopes of two avian influenza H5N1 vaccines against infection of layer chickens with a heterologous highly pathogenic virus. *Res. Vet. Sci.* 2017; 114: 143–152. DOI: 10.1016/j.rvsc.2017.04.005.

17. Swayne D., Sims L. Avian influenza. In: *Veterinary Vaccines: Principles and Applications.* Ed. by S. Metwally, G. Viljoen, A. El Idrissi. 1st ed. Chichester: John Wiley & Sons Limited; FAO; 2021; Chapter 18: 229–251. Available at: <https://www.fao.org/3/cc2031en/cc2031en.pdf>.

18. Sachs L. Statistische Auswertungsmethoden. Berlin: Springer-Verlag; 1972. 545 s. DOI: 10.1007/978-3-662-10037-0. (in German)

19. Förster E., Rönz B. Methoden der Korrelations- und Regressionsanalyse. Berlin: Die Wirtschaft; 1979. 324 s. (in German)

20. Van der Waerden B. L. Mathematische Statistik. Berlin: Springer-Verlag; 1957. 360 s. (in German)

21. Urbakh V. Yu. Statistical analysis in biological and medical research. Moscow: Medicina; 1975. 297 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 26.07.2022

Поступила после рецензирования / Revised 25.08.2022

Принята к публикации / Accepted 05.09.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Фролов Сергей Владимирович, кандидат ветеринарных наук, начальник отдела профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Мороз Наталья Владимировна, кандидат ветеринарных наук, заместитель директора по производству ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Кулаков Владимир Юрьевич, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории профилактики болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

Сосипаторова Виктория Юрьевна, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник референтной лаборатории вирусных болезней птиц ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия.

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

Sergey V. Frolov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Department for Avian Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

Natalya V. Moroz, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Deputy Director for Production, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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

Viktoriya Yu. Sosipatorova, Candidate of Science (Biology), Junior Researcher, Reference Laboratory for Avian Viral Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia.

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



Перспективы применения токсина *Bacillus anthracis* в терапии онкологических заболеваний

А. П. Родионов¹, С. В. Иванова², Е. А. Артемьева³, Л. А. Мельникова⁴

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), г. Казань, Республика Татарстан, Россия

¹ <https://orcid.org/0000-0003-0853-5678>, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com

² <https://orcid.org/0000-0002-4378-8569>, e-mail: 9274281396@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-6204-6077>, e-mail: artemevaelena21@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-0159-3843>, e-mail: vnivi@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Онкологические заболевания – одна из ведущих причин смертности домашних непродуктивных животных, а также людей во всем мире. Противопоказания и побочные эффекты традиционных методов лечения рака актуализируют исследования, направленные на поиск новых способов борьбы с такого рода заболеваниями. Одним из перспективных методов лечения онкологии является применение компонентов бактериальных токсинов, в том числе токсинов возбудителя сибирской язвы – *Bacillus anthracis*. Летальный фактор – главный фактор вирулентности возбудителя сибирской язвы, представляющий из себя цинк-зависимую металлопротеазу, субстратом которой являются внутриклеточные сигнальные пути MAPK, широко представленные в раковых клетках. Данный обзор сосредоточен на обсуждении опыта зарубежных исследователей по применению летального фактора *Bacillus anthracis* в терапии онкологических заболеваний. В работе представлены данные исследований, характеризующие структуру и функции летального фактора, отражающие результаты его воздействия на онкологические клетки как в составе токсина возбудителя сибирской язвы, так и в виде отдельной единицы, раскрывающие его терапевтический потенциал. Анализ литературных источников продемонстрировал перспективность возможного применения летального фактора на таких видах онкологических заболеваний, как рак печени, легких, толстой кишки, груди, поджелудочной железы, яичников, простаты, желудка и нервной системы. Однако, несмотря на впечатляющие результаты, необходимы дальнейшие глубокие исследования в этом направлении, касающиеся подбора оптимальных дозировок летального фактора, определения чувствительности к нему различных видов рака, изучения его воздействия на другие ткани организма и взаимодействия с иммунной системой в процессе терапии.

Ключевые слова: обзор, сибирская язва, *Bacillus anthracis*, рак, онкология, летальный фактор

Для цитирования: Родионов А. П., Иванова С. В., Артемьева Е. А., Мельникова Л. А. Перспективы применения токсина *Bacillus anthracis* в терапии онкологических заболеваний. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 375–381. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-375-381.

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.

Prospects for the use of *Bacillus anthracis* toxin in cancer therapy

A. P. Rodionov¹, S. V. Ivanova², E. A. Artemeva³, L. A. Melnikova⁴

FSBSI "Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety" (FSBSI "FCTRBS-ARRVI"), Kazan, Republic of Tatarstan, Russia

¹ <https://orcid.org/0000-0003-0853-5678>, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com

² <https://orcid.org/0000-0002-4378-8569>, e-mail: 9274281396@mail.ru

³ <https://orcid.org/0000-0002-6204-6077>, e-mail: artemevaelena21@mail.ru

⁴ <https://orcid.org/0000-0002-0159-3843>, e-mail: vnivi@mail.ru

SUMMARY

Cancer is one of the major causes of death in pet animals and humans worldwide. The contraindications and side effects associated with conventional cancer therapies heighten the importance of research aimed at finding new ways to combat cancer. One of the promising methods for the treatment of oncological diseases is the use of components of bacterial toxins, in particular the toxins of *Bacillus anthracis*, the causative agent of anthrax. Lethal factor is the main virulence factor of the anthrax pathogen, which is a zinc-dependent metalloprotease, the substrate for which is intracellular MAPK signaling pathways widely present in cancer cells. This review focuses on discussing the experience of foreign researchers in the application of *Bacillus anthracis* lethal factor in cancer therapy. The paper presents data from the studies that characterize the structure and functions of the lethal factor, reflect the results of its application on cancer cells both as a part of anthrax toxin and as a separate unit, reveal its therapeutic potential. The analysis of literature demonstrated good prospects for the potential use of the lethal factor to combat such types of cancer as liver, lung, colon, breast, pancreatic, ovarian, prostate, stomach and nervous system cancers. However, despite the impressive results, further

in-depth research is needed in this area concerning selection of optimum doses of the lethal factor, determination of sensitivity of different types of cancer to it, investigation of its effects on other body tissues and interaction with the immune system during therapy.

Keywords: review, anthrax, *Bacillus anthracis*, cancer, oncology, lethal factor

For citation: Rodionov A. P., Ivanova S. V., Artemeva E. A., Melnikova L. A. Prospects for the use of *Bacillus anthracis* toxin in cancer therapy. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 375–381. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-375-381.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of financial/non-financial interests related to the writing of the article.

For correspondence: Alexander P. Rodionov, Junior Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", 420075, Russia, Republic of Tatarstan, Kazan, Nauchny Gorodok-2, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Научные публикации последних лет свидетельствуют об увеличивающейся смертности домашних животных от онкологических заболеваний [1, 2], что делает данные патологии одной из наиболее актуальных проблем ветеринарной медицины [3].

Кроме того, онкологические заболевания – одна из ведущих причин смертности людей во всем мире. В 2020 г., по подсчетам Всемирной организации

здравоохранения, от данной патологии умерло 10 млн человек. Наиболее распространенными причинами смерти от онкологических заболеваний явились: рак легких (1,8 млн), рак кишечника (935 тыс.), рак печени (830 тыс.), рак желудка (769 тыс.), рак молочной железы (685 тыс.) [4].

Хотя традиционные методы лечения онкологических заболеваний, включая лучевую терапию, химиотерапию, хирургическое лечение, имеют широкое применение, они не лишены некоторых ограничений и побочных эффектов, ввиду чего исследователи продолжают искать новые способы терапии данных заболеваний. На сегодняшний день специалисты занимаются изучением методов иммунотерапии, криотерапии, молекулярной терапии (генная терапия, RNAi, CRISPR), применения апоптонов (селективные противораковые вирусные белки), трав и метаболитов растений [5–12].

В настоящее время одним из перспективных направлений лечения онкологических заболеваний является использование компонентов бактериальных токсинов [13–15]. Не остались в стороне и исследования по применению в этом качестве токсинов возбудителя сибирской язвы [16]. Сибирская язва – особо опасная инфекция, возбудителем которой является крупная грамположительная бактерия *Bacillus anthracis*. Заболевание широко распространено по всему земному шару [17, 18]. Попадая в восприимчивый организм, возбудитель сибирской язвы секретирует два экзотоксина – летальный токсин (LeTx) и токсин отека (EdTx), которые обуславливают развивающиеся патологические процессы в макроорганизме [19]. В последние десятилетия по итогам подробного изучения механизмов действия данных токсинов учеными была выдвинута идея исследовать возможность применения компонента LeTx *B. anthracis* – летального фактора (LF) – в качестве терапевтического средства при лечении онкологических заболеваний [20].

Исходя из вышесказанного, целью работы стало проведение обзора актуальных исследований по применению летального фактора токсина *B. anthracis* в терапии онкологических заболеваний.

СТРУКТУРА И ФУНКЦИЯ ЛЕТАЛЬНОГО ФАКТОРА *B. anthracis*

Летальный фактор (LF) – это секретируемый бактерией компонент токсина, белок молекулярной массой 90 кДа, кодируемый локусом *lef* на плазмиде pXO1 *B. anthracis*. Его кристаллическая структура состоит из 4 до-

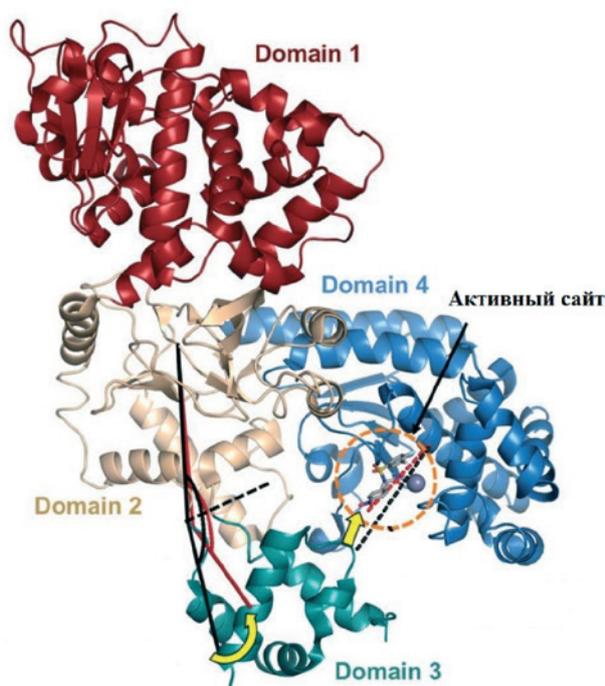


Рис. 1. Структура летального фактора *B. anthracis* [21]:
 домен 1 – отвечает за взаимодействие с PA;
 домен 2 – ответствен за транслокацию LF через образуемую в мембране клетки пору;
 домен 3 – функционально активная субъединица;
 домен 4 – совместно с доменом 1 отвечает за взаимодействие с PA;
 активный сайт (обведен оранжевым пунктиром) – отображает расположение каталитического цинка (серая сфера)

Fig. 1. Structure of *B. anthracis* lethal factor [21]:
 domain 1 is responsible for interaction with PA;
 domain 2 is responsible for LF translocation through the pore formed in the cell membrane;
 domain 3 is a functionally active subunit;
 domain 4 is together with domain 1 responsible for interaction with PA;
 the active site (circled with an orange dotted line) displays catalytic zinc (gray sphere)

менов: домен 1 структурно аналогичен домену 4 и отвечает за взаимодействие с рецепторсвязывающим компонентом токсина – протективным антигеном (РА). Домен 2 структурно связан с доменами 1 и 4 и отвечает за транслокацию через образуемую в мембране клетки пору. Домен 3 является активной каталитической субъединицей, определяющей функциональную активность LF (рис. 1) [21].

В классическом варианте LF проникает в клетку-мишень посредством транслокации через пору, создаваемую РА. Для этого РА необходимо соединиться с рецепторами на поверхности клетки, которые представлены мембранными белками I типа: TEM8 (tumor endothelium marker 8) и CMG2 (capillary morphogenesis protein 2). После чего LF начинает проявлять свое токсическое действие на клетку (рис. 2) [22, 23].

В 1998 г. две независимые группы ученых идентифицировали протеолитические субстраты LF, которыми оказались сигнальные пути MAPK (mitogen-activated protein kinase) – группа мультифункциональных внутриклеточных сигнальных путей, контролирующая транскрипцию генов, ответственных за метаболизм, пролиферацию и другие процессы, а также играющих решающую роль в онкогенезе раковых заболеваний [24, 25]. Данное открытие послужило толчком к последующим исследованиям воздействия летального токсина *B. anthracis* на раковые клетки.

ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ LeTx *B. anthracis* НА КЛЕТКИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ РАКА

В 2001 г. группа ученых из США опубликовала результаты воздействия LeTx *B. anthracis* на клетки фибробластомы. Авторы установили, что воздействие LeTx на данные клетки в течение 48 ч приводило к ингибированию их пролиферации до 35%. После полученных положительных результатов N. S. Duesbery et al. изучили влияние LeTx на онкогенность *in vivo* с использованием модели бестимусных лабораторных мышей. Было установлено, что средняя масса опухолей в группе животных, получавших ежедневную инъекцию LeTx в дозе 2 мкг в течение 5 дней, уменьшилась на 63% в сравнении с контрольной группой. Кроме того, было выявлено, что воздействие на опухоль LeTx ингибировало ее ангиогенез (рис. 3) [26].

Другой группой специалистов было проведено исследование воздействия LeTx на клетки меланомы человека на модели лабораторных мышей [27]. Самкам

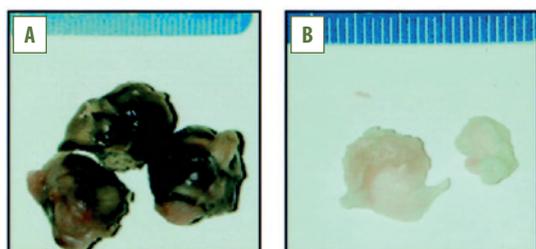


Рис. 3. Фибробластомы, удаленные из организмов опытных мышей [26]: А – контрольная группа; В – опытная группа, получавшая 2 мкг LeTx *B. anthracis* в течение 5 дней

Fig. 3. Fibrosarcomas removed from laboratory mice [26]: A – control group; B – test group injected with 2 µg of *B. anthracis* LeTx during 5 days

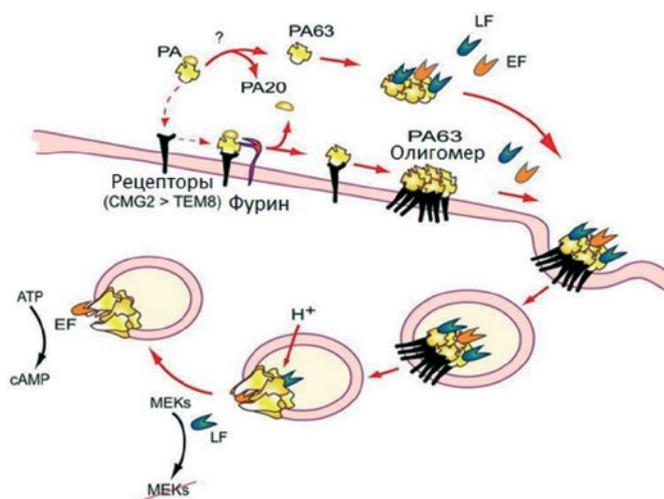


Рис. 2. Механизм проникновения токсина *B. anthracis* в клетку-мишень [23].

Секретированный возбудителем РА взаимодействует со специфичными ему рецепторами на поверхности клеток-мишеней. После чего под действием мембранной протеазы (фурина) происходит расщепление РА на два пептида (63 кДа и 20 кДа) с последующей олигомеризацией РА₆₃, встраиванием его в мембрану клетки и присоединением к нему LF или EF. Получившийся комплекс (РА + LF и/или РА + EF) проходит в цитоплазму посредством эндоцитоза. Внутри эндосомы на токсин действует кислая среда, которая способствует образованию олигомерного канала из РА₆₃ в стенке эндосомы и дальнейшему выходу LF и/или EF в цитозоль клетки

Fig. 2. Mechanism of *B. anthracis* toxin penetration into the target cell [23].

РА secreted by the agent interacts with its specific receptors on the surface of target cells. Then PA is cleaved by membrane protease (furin) into two peptides (63 kDa and 20 kDa), with subsequent PA₆₃ oligomerization, its insertion into the cell membrane and LF or EF attachment to it. The resulting complex (PA + LF and/or PA + EF) enters the cytoplasm through endocytosis. When inside the endosome, the toxin is exposed to acidic environment, which facilitates the formation of PA₆₃ oligomer channel in the endosome wall and subsequent LF and/or EF entry into the cell cytosol

бестимусных мышей подкожно вводили культуры клеток меланомы SK-MEL-28 и M14-MEL в правую и левую дорсальную области спины. После приживления клеток в выросшие опухоли ежедневно инъецировали 2 мкг LeTx в течение трех дней. Было установлено, что после проведенной терапии опухоли некротизировались в среднем на 31,5–55,2%. Кроме того, при введении LeTx внутрь опухоли только с одной стороны опухоль на противоположной стороне также регрессировала, что отражает системное влияние LeTx (рис. 4) [27].



Рис. 4. Меланомы, удаленные из организма опытных мышей [27]: А – контрольная группа; В – опытная группа, получавшая 2 мкг LeTx *B. anthracis* в течение 72 ч

Fig. 4. Melanomas removed from laboratory mice [27]: A – control group; B – test group injected with 2 µg of *B. anthracis* LeTx during 72 hours

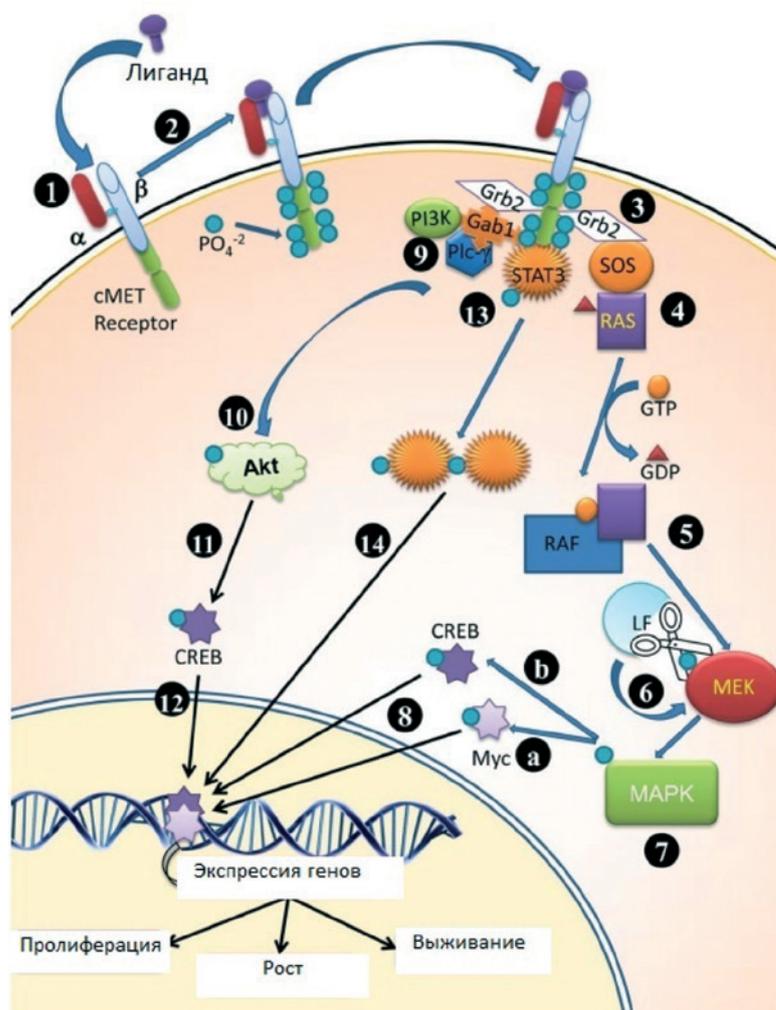


Рис. 5. Предполагаемый механизм действия LF *B. anthracis* на раковые клетки, экспрессирующие рецептор c-Met [5]:

(1) α-субъединица рецептора c-Met располагается вне клетки, в то время как субъединица β представляет собой трансмембранный пептид, обладающий киназным доменом и местом стыковки для молекулы, которая участвует в клеточной передаче сигналов и биологической активности рецептора; (2) при связывании лиганда с рецептором c-MET домен тирозинкиназы подвергается окислительному фосфорилированию; (3) эффектор Grb2 (Growth factor receptor-bound protein 2 / Белок 2, связанный с рецептором фактора роста) связывается с фосфорилированной тирозинкиназой и фактором гуанинового обмена RAS SOS; (4) SOS способствует диссоциации GDP (guanosine diphosphate / гуанозиндифосфат) от Ras и присоединению GTP (guanosine triphosphate / гуанозинтрифосфат), тем самым активируя Ras; (5) Ras активирует Raf (белки, участвующие в передаче сигнала) и, в свою очередь, (6) фосфорилирует MEK с последующим фосфорилированием MAPK; LF расщепляет MEK и предотвращает дальнейшую передачу сигналов, необходимую для пролиферации, выживания и роста клеток

Fig. 5. Plausible mechanism of *B. anthracis* LF effect on cancer cells expressing c-Met receptor [5]:

(1) α-subunit of c-Met receptor is extracellular, while β-subunit is a transmembrane peptide possessing a kinase domain and a docking site for the molecule involved in cell signaling and receptor biological activity; (2) upon ligand binding to c-MET receptor, the tyrosine kinase domain undergoes oxidative phosphorylation; (3) Grb2 (growth factor receptor-bound protein 2) effector binds to phosphorylated tyrosine kinase and RAS guanine exchange factor SOS; (4) SOS promotes dissociation of GDP (guanosine diphosphate) from Ras and attachment of GTP (guanosine triphosphate) and thereby activates Ras; (5) Ras activates Raf (proteins involved in signaling) and, in turn, (6) phosphorylates MEK, followed by phosphorylation of MAPK; LF cleaves MEK and prevents further signaling required for cell proliferation, survival and growth

Изучение воздействия LeTx на клетки меланомы, фибросаркомы, рака почек и рака легких, проведенного в первом десятилетии XXI века, показало возможность значительного подавления роста раковых клеток [28–30]. Однако кроме уничтожения патологических клеток LeTx повреждал и нормальные клетки

организма, поскольку не обладал специфичностью. Поэтому применение LeTx в исследованиях по терапии рака было ограничено. Данный факт актуализировал исследования, направленные на поиск возможных специфических клеточных рецепторов, которые могли бы взаимодействовать с LF без посредничества PA.

ВОЗМОЖНОСТЬ СПЕЦИФИЧНОГО ПРИМЕНЕНИЯ LF *B. anthracis* В ТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В 2017 г. группой индийских ученых была проведена работа, показавшая возможность проникновения LF в клетки, минуя связывание с РА, путем взаимодействия LF со специфичными клеточными рецепторами. За показатель интенсивности взаимодействия ими было взято количество образующихся водородных связей и количество свободной энергии, высвобождаемое при соединении белка с рецептором. В исследовании было установлено, что помимо естественного связывания с РА, количество водородных связей при котором равно 22 при значении свободной энергии -402,60, LF активно взаимодействует с рецептором HER3 (Human epidermal growth factor receptor 3) с 20 водородными связями и свободной энергией, равной -260,00, и с рецептором c-Met (Hepatocyte growth factor receptor), образуя 19 водородных связей при свободной энергии -773,96 [5]. В здоровом организме рецептор c-Met экспрессирует только стволовые клетки и клетки-предшественники, что позволяет им инвазивно расти, генерируя новые ткани у эмбриона, и регенерировать поврежденные ткани у взрослого. Однако при возникновении онкологического заболевания данный рецептор начинает сверхэкспрессироваться на поверхности раковых клеток [31, 32]. Рецептор c-Met активно экспрессируется на таких видах рака, как рак печени, легких, толстой кишки, груди, поджелудочной железы, яичников, простаты, желудка и нервной системы [5]. Полученные данные показали, что LF имеет сильную аффилированность с рецептором c-Met, что позволяет предполагать возможность его применения в терапии онкологических заболеваний, при которых данный рецептор сверхэкспрессируется на раковых клетках.

Для подтверждения этого предположения авторы провели исследование действия LF на пролиферацию опухолевых клеток молочной железы (пятому по смертности виду рака в мире). Было установлено, что при совместном инкубировании в течение 72 ч LF при дозировке 50 нг снижал пролиферацию опухолевых клеток молочной железы в среднем на $28,0 \pm 1,77\%$ при полном отсутствии токсичного воздействия на клетки, чувствительные к LeTx [5]. Данное исследование показало, что существует возможность специфической терапии онкологических заболеваний LF *B. anthracis* при заболеваниях, характеризующихся экспрессией раковыми клетками рецептора c-Met.

В настоящее время предполагают, что механизм действия LF на онкологические клетки, экспрессирующие c-Met, выглядит следующим образом (рис. 5). Взаимодействие лиганда (LF) с рецептором на поверхности клетки (c-Met) приводит к конформационным изменениям на внутриклеточной части рецептора, что, в свою очередь, дает начало каскаду последовательных реакций окислительного фосфорилирования. Рядом с цитоплазматической частью рецептора собирается сигнальный комплекс из множества белков, который активирует ГТФазу Ras. Ras связывает и активирует киназу киназы MAPK/ERK (MAPK/ERK kinase kinase, или MEKK), главными компонентами которой являются белки семейства Raf. MEKK фосфорилирует и активирует киназу, представленную компонентами MEK. В свою очередь, MEK фосфорилирует MAPK, которая способствует передаче сигналов пролиферации, роста и вы-

живания клеток. LF расщепляет MEK и предотвращает дальнейшую передачу сигналов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время как в ветеринарной, так и в гуманной медицине онкологические заболевания являются одной из главных причин смерти, что демонстрирует актуальность исследований, направленных на поиски новых средств терапии данной патологии.

Результаты настоящего обзора литературы демонстрируют потенциал использования компонента токсина *B. anthracis* в качестве альтернативных терапевтических средств против онкологических заболеваний. Установлено, что многие виды раковых клеток, в том числе рак печени, легких, толстой кишки, груди, поджелудочной железы, яичников, простаты, желудка и нервной системы, экспрессируют на своей поверхности специфичный для LF рецептор тирозинкиназы (c-Met). Взаимодействие c-Met и LF вызывает расщепление последним внутриклеточных сигнальных путей, ответственных за пролиферацию, рост и выживание клеток, что, в свою очередь, приводит к некротизации раковых опухолей.

Однако, несмотря на впечатляющие результаты исследований по применению LF в терапии онкологических заболеваний, необходимы дальнейшие глубокие исследования в этом направлении, касающиеся:

- 1) подбора дозировок LF, длительности и схемы его применения;
- 2) определения чувствительности к нему различных видов рака, экспрессирующих c-Met *in vitro* и *in vivo*;
- 3) изучения влияния LF на другие ткани организма в процессе терапии;
- 4) изучения реакций иммунной системы при применении LF.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Максимов С. М., Ханхасыков С. П. Онкологическая патология как причина смерти собак и кошек в городе Уссурийск. *Вестник ИРГСХА*. 2022; 1 (108): 118–126. DOI: 10.51215/1999-3765-2022-108-118-126.
2. Тихенко А. С., Ханхасыков С. П. Онкологическая патология как причина смерти собак и кошек в городе Иркутске. *Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В. Р. Филиппова*. 2021; 4 (65): 95–101. DOI: 10.34655/bgsha.2021.65.4.013.
3. Горинский В. И., Салаутин В. В., Пудовкин Н. А., Салаутина С. Е. Анализ распространения онкологических заболеваний домашних непродуктивных животных в административных районах города Волгограда. *Аграрный научный журнал*. 2022; (1): 51–54. DOI: 10.28983/asj.y2022i1pp51-54.
4. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71 (3): 209–249. DOI: 10.3322/caac.21660.
5. Khandia R., Pattnaik B., Rajukumar K., Pateriya A., Bhatia S., Murugkar H., et al. Anti-proliferative role of recombinant lethal toxin of *Bacillus anthracis* on primary mammary ductal carcinoma cells revealing its therapeutic potential. *Oncotarget*. 2017; 8 (22): 35835–35847. DOI: 10.18632/oncotarget.16214.
6. Pimentel A. A., Felibert P., Sojo F., Colman L., Mayora A., Silva M. L., et al. The marine sponge toxin agelasine B increases the intracellular Ca²⁺ concentration and induces apoptosis in human breast cancer cells (MCF-7). *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2012; 69 (1): 71–83. DOI: 10.1007/s00280-011-1677-x.
7. Dhama K., Chakraborty S., Wani M. Y., Verma A. K., Deb R., Tiwari R., Kapoor S. Novel and emerging therapies safeguarding health of humans and their companion animals: a review. *Pak. J. Biol. Sci.* 2013; 16 (3): 101–111. DOI: 10.3923/pjbs.2013.101.111.
8. Dhama K., Mani S., Chakraborty S., Tiwari R., Kumar A., Selvaraj P., Rai R. B. Herbal remedies to combat cancers in humans and animals – a review. *Int. J. Curr. Res.* 2013; 5 (07): 1908–1919.
9. Dhama K., Latheef S. K., Munjal A. K., Khandia R., Samad H. A., Iqbal H. M., Joshi S. K. Probiotics in curing allergic and inflammatory

conditions – research progress and futuristic vision. *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug Discov.* 2016; 10 (2): 105–118. DOI: 10.2174/1872213X10666161226162229.

10. He Z. M., Zhang P. H., Li X., Zhang J. R., Zhu J. J. A targeted DNAzyme-nanocomposite probe equipped with built-in Zn²⁺ arsenal for combined treatment of gene regulation and drug delivery. *Sci. Rep.* 2016; 6:22737. DOI: 10.1038/srep22737.

11. Polito L., Djemil A., Bortolotti M. Plant toxin-based immunotoxins for cancer therapy: a short overview. *Biomedicines.* 2016; 4 (2):12. DOI: 10.3390/biomedicines4020012.

12. Mohanty I., Arunvikram K., Behera D., Milton A. A. P., Elaiyaraja G., Rajesh G., Dhama K. Immunomodulatory and therapeutic potential of zootoxins (venom and toxins) on the way towards designing and developing novel drugs/medicines: an overview. *Int. J. Pharmacol.* 2016; 12 (2): 126–135. DOI: 10.3923/ijp.2016.126.135.

13. Grenda T., Grenda A., Krawczyk P., Kwiatek K. Botulinum toxin in cancer therapy – current perspectives and limitations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2022; 106 (2): 485–495. DOI: 10.1007/s00253-021-11741-w.

14. Masilamani A. P., Fischer A., Schultze-Seemann S., Kuckuck I., Wolf I., Dressler F. F., et al. Epidermal growth factor based targeted toxin for the treatment of bladder cancer. *Anticancer Res.* 2021; 41 (8): 3741–3746. DOI: 10.21873/anticancer.15165.

15. Trivanović D., Pavelić K., Peršurić Ž. Fighting cancer with bacteria and their toxins. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22 (23):12980. DOI: 10.3390/ijms222312980.

16. Zhuo W., Tao G., Zhang L., Chen Z. Vector-mediated selective expression of lethal factor, a toxic element of *Bacillus anthracis*, damages A549 cells via inhibition of MAPK and AKT pathways. *Int. J. Med. Sci.* 2013; 10 (3): 292–8. DOI: 10.7150/ijms.5570.

17. Родионов А. П., Артемьева Е. А., Мельникова Л. А., Косарев М. А., Иванова С. В. Особенности природной очаговости сибирской язвы и экологии *Bacillus anthracis*. *Ветеринария сегодня.* 2021; (2): 151–158. DOI: 10.29326/7304-196X-7021-2-37-151-158.

18. Рязанова А. Г., Герасименко Д. К., Буравцева Н. П., Мезенцев В. М., Логвин Ф. В., Головинская Т. М. и др. Применение геоинформационных технологий для оценки эпизоотологической и эпидемиологической обстановки по сибирской язве в Волгоградской области. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2021; 4: 112–119. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-112-119.

19. Иванова С. В., Родионов А. П., Мельникова Л. А. Мониторинг факторов потенциальной опасности возникновения вспышек сибирской язвы. *Иппология и ветеринария.* 2021; 1 (39): 93–100. eLIBRARY ID: 44665504.

20. Bodart J. F., Chopra A., Liang X., Duesbery N. Anthrax, MEK and cancer. *Cell Cycle.* 2002; 1 (1): 10–15. PMID: 12429903.

21. Maize K. M., Kurbanov E. K., De La Mora-Rey T., Geders T. W., Hwang D. J., Walters M. A., et al. Anthrax toxin lethal factor domain 3 is highly mobile and responsive to ligand binding. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 2014; 70 (Pt 11): 2813–2822. DOI: 10.1107/S1399004714018161.

22. Родионов А. П., Иванова С. В., Мельникова Л. А., Евстифеев В. В. Современные представления о пато- и иммуногенезе сибирской язвы. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.* 2021; (2): 30–37. eLIBRARY ID: 46196527.

23. Liu S., Moayeri M., Leppla S. H. Anthrax lethal and edema toxins in anthrax pathogenesis. *Trends Microbiol.* 2014; 22 (6): 317–325. DOI: 10.1016/j.tim.2014.02.012.

24. Duesbery N. S., Webb C. P., Leppla S. H., Gordon V. M., Klimpel K. R., Copeland T. D., et al. Proteolytic inactivation of MAP-kinase-kinase by anthrax lethal factor. *Science.* 1998; 280 (5364): 734–737. DOI: 10.1126/science.280.5364.734.

25. Vitale G., Pellizzari R., Recchi C., Napolitano G., Mock M., Montecucco C. Anthrax lethal factor cleaves the N-terminus of MAPKs and induces tyrosine/threonine phosphorylation of MAPKs in cultured macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998; 248 (3): 706–711. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9040.

26. Duesbery N. S., Resau J., Webb C. P., Koochekpour S., Koo H. M., Leppla S. H., Vande Woude G. F. Suppression of ras-mediated transformation and inhibition of tumor growth and angiogenesis by anthrax lethal factor, a proteolytic inhibitor of multiple MEK pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2001; 98 (7): 4089–4094. DOI: 10.1073/pnas.061031898.

27. Koo H. M., VanBroeklin M., McWilliams M. J., Leppla S. H., Duesbery N. S., Vande Woude G. F. Apoptosis and melanogenesis in human melanoma cells induced by anthrax lethal factor inactivation of mitogen-activated protein kinase kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99 (5): 3052–3057. DOI: 10.1073/pnas.052707699.

28. Abi-Habib R. J., Singh R., Leppla S. H., Greene J. J., Ding Y., Berghuis B., et al. Systemic anthrax lethal toxin therapy produces regressions of subcutaneous human melanoma tumors in athymic nude mice. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12 (24): 7437–7443. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2019.

29. Ding Y., Boguslawski E. A., Berghuis B. D., Young J. J., Zhang Z., Hardy K., et al. Mitogen-activated protein kinase kinase signaling promotes

growth and vascularization of fibrosarkoma. *Mol. Cancer Ther.* 2008; 7 (3): 648–658. DOI: 10.1158/1535-7163.MST-07-2229.

30. Huang D., Ding Y., Luo W. M., Bender S., Qian C. N., Kort E., et al. Inhibition of MAPK kinase signaling pathways suppressed renal cell carcinoma growth and angiogenesis *in vivo*. *Cancer Res.* 2008; 68 (1): 81–88. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5311.

31. Johnson M., Koukoulis G., Kochhar K., Kubo C., Nakamura T., Iyer A. Selective tumorigenesis in non-parenchymal liver epithelial cell lines by hepatocyte growth factor transfection. *Cancer Letters.* 1995; 96 (1): 37–48. DOI: 10.1016/0304-3835(95)03915-j.

32. Kochhar K. S., Johnson M. E., Volpert O., Iyer A. P. Evidence for autocrine basis of transformation in NIH-3T3 cells transfected with met/HGF receptor gene. *Growth Factors.* 1995; 12 (4): 303–313. DOI: 10.3109/08977199509028968.

REFERENCES

1. Maksimov S. M., Khankhasykov S. P. Oncological pathology as the cause of death of dogs and cats in the city of Ussuriysk. *Vestnik IrGSHA.* 2022; 1 (108): 118–126. DOI: 10.51215/1999-3765-2022-108-118-126. (in Russ.)

2. Tikhenko A. S., Khankhasykov S. P. Oncological pathology as a cause of the death of dogs and cats in the Ikutsk city. *Vestnik of Buryat State Academy of Agriculture named after V. Philippov.* 2021; 4 (65): 95–101. DOI: 10.34655/bgsha.2021.65.4.013. (in Russ.)

3. Gorinsky V. I., Salautin V. V., Pudovkin N. A., Salautina S. E. Analysis of the spread of oncological diseases of domestic unproductive animals in the administrative districts of the city of Volgograd. *Agrarian Scientific Journal.* 2022; (1): 51–54. DOI: 10.28983/asj.y2022i1pp51-54. (in Russ.)

4. Sung H., Ferlay J., Siegel R. L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71 (3): 209–249. DOI: 10.3322/caac.21660.

5. Khandia R., Pattnaik B., Rajukumar K., Pateriya A., Bhatia S., Murugkar H., et al. Anti-proliferative role of recombinant lethal toxin of *Bacillus anthracis* on primary mammary ductal carcinoma cells revealing its therapeutic potential. *Oncotarget.* 2017; 8 (22): 35835–35847. DOI: 10.18632/oncotarget.16214.

6. Pimentel A. A., Felibert P., Sojo F., Colman L., Mayora A., Silva M. L., et al. The marine sponge toxin agelastin B increases the intracellular Ca²⁺ concentration and induces apoptosis in human breast cancer cells (MCF-7). *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2012; 69 (1): 71–83. DOI: 10.1007/s00280-011-1677-x.

7. Dhama K., Chakraborty S., Wani M. Y., Verma A. K., Deb R., Tiwari R., Kapoor S. Novel and emerging therapies safeguarding health of humans and their companion animals: a review. *Pak. J. Biol. Sci.* 2013; 16 (3): 101–111. DOI: 10.3923/pjbs.2013.101.111.

8. Dhama K., Mani S., Chakraborty S., Tiwari R., Kumar A., Selvaraj P., Rai R. B. Herbal remedies to combat cancers in humans and animals – a review. *Int. J. Curr. Res.* 2013; 5 (07): 1908–1919.

9. Dhama K., Latheef S. K., Munjal A. K., Khandia R., Samad H. A., Iqbal H. M., Joshi S. K. Probiotics in curing allergic and inflammatory conditions – research progress and futuristic vision. *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug Discov.* 2016; 10 (2): 105–118. DOI: 10.2174/1872213X10666161226162229.

10. He Z. M., Zhang P. H., Li X., Zhang J. R., Zhu J. J. A targeted DNAzyme-nanocomposite probe equipped with built-in Zn²⁺ arsenal for combined treatment of gene regulation and drug delivery. *Sci. Rep.* 2016; 6:22737. DOI: 10.1038/srep22737.

11. Polito L., Djemil A., Bortolotti M. Plant toxin-based immunotoxins for cancer therapy: a short overview. *Biomedicines.* 2016; 4 (2):12. DOI: 10.3390/biomedicines4020012.

12. Mohanty I., Arunvikram K., Behera D., Milton A. A. P., Elaiyaraja G., Rajesh G., Dhama K. Immunomodulatory and therapeutic potential of zootoxins (venom and toxins) on the way towards designing and developing novel drugs/medicines: an overview. *Int. J. Pharmacol.* 2016; 12 (2): 126–135. DOI: 10.3923/ijp.2016.126.135.

13. Grenda T., Grenda A., Krawczyk P., Kwiatek K. Botulinum toxin in cancer therapy – current perspectives and limitations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2022; 106 (2): 485–495. DOI: 10.1007/s00253-021-11741-w.

14. Masilamani A. P., Fischer A., Schultze-Seemann S., Kuckuck I., Wolf I., Dressler F. F., et al. Epidermal growth factor based targeted toxin for the treatment of bladder cancer. *Anticancer Res.* 2021; 41 (8): 3741–3746. DOI: 10.21873/anticancer.15165.

15. Trivanović D., Pavelić K., Peršurić Ž. Fighting cancer with bacteria and their toxins. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22 (23):12980. DOI: 10.3390/ijms222312980.

16. Zhuo W., Tao G., Zhang L., Chen Z. Vector-mediated selective expression of lethal factor, a toxic element of *Bacillus anthracis*, damages A549 cells via inhibition of MAPK and AKT pathways. *Int. J. Med. Sci.* 2013; 10 (3): 292–298. DOI: 10.7150/ijms.5570.

17. Rodionov A. P., Artemeva E. A., Melnikova L. A., Kosarev M. A., Ivanova S. V. Features of anthrax natural foci and *Bacillus anthracis* ecology. *Veterinary Science Today*. 2021; (2): 151–158. DOI: 10.29326/7304-196X-7021-2-37-151-158.
18. Ryazanova A. G., Gerasimenko D. K., Buravtseva N. P., Mezentshev V. M., Logvin F. V., Golovinskaya T. M., et al. Application of geoinformation technologies for assessment of the epizootiological and epidemiological situation on anthrax in the Volgograd Region. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2021; 4: 112–119. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-4-112-119. (in Russ.)
19. Ivanova S. V., Rodionov A. P., Melnikova L. A. Monitoring the potential hazards of anthrax outbreaks. *Hippology and veterinary*. 2021; 1 (39): 93–100. eLIBRARY ID: 44665504. (in Russ.)
20. Bodart J. F., Chopra A., Liang X., Duesbery N. Anthrax, MEK and cancer. *Cell Cycle*. 2002; 1 (1): 10–15. PMID: 12429903.
21. Maize K. M., Kurbanov E. K., De La Mora-Rey T., Geders T. W., Hwang D. J., Walters M. A., et al. Anthrax toxin lethal factor domain 3 is highly mobile and responsive to ligand binding. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr.* 2014; 70 (Pt 11): 2813–2822. DOI: 10.1107/S1399004714018161.
22. Rodionov A. P., Ivanova S. V., Melnikova L. A., Evstifeev V. V. Modern understanding of pathogenesis and immunogenesis of anthrax. *Legal regulation in veterinary medicine*. 2021; (2): 30–37. eLIBRARY ID: 46196527. (in Russ.)
23. Liu S., Moayeri M., Leppla S. H. Anthrax lethal and edema toxins in anthrax pathogenesis. *Trends Microbiol.* 2014; 22 (6): 317–325. DOI: 10.1016/j.tim.2014.02.012.
24. Duesbery N. S., Webb C. P., Leppla S. H., Gordon V. M., Klimpel K. R., Copeland T. D., et al. Proteolytic inactivation of MAP-kinase-kinase by anthrax lethal factor. *Science*. 1998; 280 (5364): 734–737. DOI: 10.1126/science.280.5364.734.
25. Vitale G., Pellizzari R., Recchi C., Napolitani G., Mock M., Montecusco C. Anthrax lethal factor cleaves the N-terminus of MAPKs and induces tyrosine/threonine phosphorylation of MAPKs in cultured macrophages. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998; 248 (3): 706–711. DOI: 10.1006/bbrc.1998.9040.
26. Duesbery N. S., Resau J., Webb C. P., Koochekpour S., Koo H. M., Leppla S. H., Vande Woude G. F. Suppression of ras-mediated transformation and inhibition of tumor growth and angiogenesis by anthrax lethal factor, a proteolytic inhibitor of multiple MEK pathways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001; 98 (7): 4089–4094. DOI: 10.1073/pnas.061031898.
27. Koo H. M., VanBrocklin M., McWilliams M. J., Leppla S. H., Duesbery N. S., Vande Woude G. F. Apoptosis and melanogenesis in human melanoma cells induced by anthrax lethal factor inactivation of mitogen-activated protein kinase kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002; 99 (5): 3052–3057. DOI: 10.1073/pnas.052707699.
28. Abi-Habib R. J., Singh R., Leppla S. H., Greene J. J., Ding Y., Berghuis B., et al. Systemic anthrax lethal toxin therapy produces regressions of subcutaneous human melanoma tumors in athymic nude mice. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12 (24): 7437–7443. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2019.
29. Ding Y., Boguslawski E. A., Berghuis B. D., Young J. J., Zhang Z., Hardy K., et al. Mitogen-activated protein kinase kinase signaling promotes growth and vascularization of fibrosarcoma. *Mol. Cancer Ther.* 2008; 7 (3): 648–658. DOI: 10.1158/1535-7163.MST-07-2229.
30. Huang D., Ding Y., Luo W. M., Bender S., Qian C. N., Kort E., et al. Inhibition of MAPK kinase signaling pathways suppressed renal cell carcinoma growth and angiogenesis *in vivo*. *Cancer Res.* 2008; 68 (1): 81–88. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5311.
31. Johnson M., Koukoulis G., Kochhar K., Kubo C., Nakamura T., Iyer A. Selective tumorigenesis in non-parenchymal liver epithelial cell lines by hepatocyte growth factor transfection. *Cancer Letters*. 1995; 96 (1): 37–48. DOI: 10.1016/0304-3835(95)03915-j.
32. Kochhar K. S., Johnson M. E., Volpert O., Iyer A. P. Evidence for autocrine basis of transformation in NIH-3T3 cells transfected with met/HGF receptor gene. *Growth Factors*. 1995; 12 (4): 303–313. DOI: 10.3109/08977199509028968.

Поступила в редакцию / Received 20.05.2022

Поступила после рецензирования / Revised 02.06.2022

Принята к публикации / Accepted 30.09.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Родионов Александр Павлович, младший научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Иванова Светлана Викторовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории вирусных антропоознозов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия.

Артемяева 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.

Alexander P. Rodionov, Junior Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI “FCTRBS-ARRVI”, Kazan, Russia.

Svetlana V. Ivanova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Viral Anthropozoonoses, FSBSI “FCTRBS-ARRVI”, Kazan, Russia.

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.



Рецензия на монографию К. Н. Груздева, А. Е. Метлина «Бешенство животных».

2-е изд., перераб. и доп. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2022.

442 с.: ил. ISBN 978-5-907383-77-7

В. И. Белоусов

Доктор ветеринарных наук, профессор, почетный работник Россельхознадзора, главный научный сотрудник ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория», г. Москва, Россия

Для цитирования: Белоусов В. И. Рецензия на монографию К. Н. Груздева, А. Е. Метлина «Бешенство животных». 2-е изд., перераб. и доп. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2022. 442 с.: ил. ISBN 978-5-907383-77-7. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 382. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-382.

Peer-review of monograph of K. N. Gruzdev, A. Ye. Metlin “Animal Rabies”.

2nd ed., revised and expanded. Vladimir: FGBI “ARRIAH”, 2022.

442 p.: fig. ISBN 978-5-907383-77-7

V. I. Belousov

Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Honorary Employee of the Rosselkhoznadzor, Chief Researcher, Central Scientific and Methodological Veterinary Laboratory, Moscow, Russia

For citation: Belousov V. I. Peer-review of monograph of K. N. Gruzdev, A. Ye. Metlin “Animal Rabies”. 2nd ed., revised and expanded. Vladimir: FGBI “ARRIAH”, 2022. 442 p.: fig. ISBN 978-5-907383-77-7. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 382. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-382.

Бешенство как зооноз требует постоянного мониторинга, тесной координации действий ветеринарных и медицинских служб на национальном, региональном и международном уровнях, актуализации нормативных документов. Оно входит в пятерку зоонозов, наносящих наибольший экономический ущерб, и является постоянной угрозой для жизни человека и животных.

Профилактику и контроль бешенства животных многие страны считают приоритетной задачей в качестве важнейшей составной части своей деятельности. Подсчитано, что расходы на медицинскую помощь значительно выше, чем профилактические ветеринарные затраты.

Целью второго издания рецензируемой переработанной и дополненной монографии является актуализация современных взглядов по ряду вопросов рабиологии (некоторые особенности этиологии, эпизоотология в современных условиях, мониторинг, диагностика, средства и методы борьбы с бешенством), основанная на научных работах, выполненных авторами и сотрудниками ФГБУ «ВНИИЗЖ». Предоставлена информация, которая может быть адаптирована для будущих федеральных программ контроля бешенства в РФ и странах СНГ.

Исторически сложившееся неблагополучие по бешенству на территории государств – участников СНГ обуславливается наличием природных очагов бешенства, разнообразием участников эпизоотического процесса и большим количеством восприимчивых животных.

На территории граничащих между собой стран бывшего СССР существуют природные очаги бешенства, поддерживаемые дикими плотоядными животными, не признающими этих границ.

Авторы считают, что решение проблемы бешенства упирается в недостаточную изученность как фундаментальных, так и прикладных вопросов, а также в организационные вопросы программного характера.

Монография включает большой объем современных научных данных, написана хорошим научным языком, иллюстрирована многочисленными авторскими таблицами, рисунками, фотографиями. Приведенные в книге материалы могут быть использованы учеными, занимающимися изучением проблем бешенства животных, студентами при прохождении профильных дисциплин в высших учебных заведениях и ветеринарными специалистами при профилактике и ликвидации бешенства как на территории России, так и в сопредельных странах.



Рецензия на монографию К. Н. Груздева, А. Е. Метлина «Бешенство животных».

2-е изд., перераб. и доп. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2022.

442 с.: ил. ISBN 978-5-907383-77-7

О. Ю. Черных

Доктор ветеринарных наук, профессор, директор государственного бюджетного учреждения Краснодарского края «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория», г. Кропоткин, Россия

Для цитирования: Черных О. Ю. Рецензия на монографию К. Н. Груздева, А. Е. Метлина «Бешенство животных». 2-е изд., перераб. и доп. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ», 2022. 442 с.: ил. ISBN 978-5-907383-77-7. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 383–384. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-383-384.

Peer-review of monograph of K. N. Gruzdev, A. Ye. Metlin “Animal Rabies”.

2nd ed., revised and expanded. Vladimir: FGBI “ARRIAH”, 2022.

442 p.: fig. ISBN 978-5-907383-77-7

O. Yu. Chernykh

Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Director, State Budgetary Institution of Krasnodar territory “Kropotkin Regional Veterinary Laboratory”, Kropotkin, Russia

For citation: Chernykh O. Yu. Peer-review of monograph of K. N. Gruzdev, A. Ye. Metlin “Animal Rabies”. 2nd ed., revised and expanded. Vladimir: FGBI “ARRIAH”, 2022. 442 p.: fig. ISBN 978-5-907383-77-7. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 383–384. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-383-384.

Монография «Бешенство животных» посвящена проблеме бешенства, которая и в XXI веке продолжает вызывать озабоченность ВОЗ, ВОЗЖ, ФАО. Заболевание животных бешенством регистрируется более чем в 100 странах в различных частях мира. Вирус бешенства относится к порядку *Mononegavirales*, семейству *Rhabdoviridae*, которое включает как минимум 10 родов, роду *Lyssavirus*.

Бешенством болеют различные виды млекопитающих, в том числе и продуктивные сельскохозяйственные животные. Заболевание является ярко выраженным зоонозом. В странах, которые освободились от бешенства животных, заболевание считают эмерджентным. К сожалению, в Российской Федерации и сопредельных с ней странах бешенство животных продолжает регистрироваться. Вирус бешенства сохраняется среди представителей дикой фауны. Это связывают с активным антропогенным воздействием на биосферу, ускорением эволюционных процессов, обусловивших изменения как в макромире, т. е. у населяющих планету животных, так и в микромире.

Тревожным проявлением, в связи с изменением климатических условий, является расширение пред-

ставителей рода лиссавирусов, выявляемых среди насекомых летучих мышей в Австралии, Европе и нашей стране.

Авторы монографии актуализировали последние достижения в области рабиологии и детально описали на основе современных рекомендаций ВОЗ, ВОЗЖ и ФАО некоторые вопросы профилактики и борьбы с бешенством. В издании представлены данные по этиологии, патогенезу, клиническому проявлению бешенства; дана с учетом новых представлений современная классификация возбудителей рода лиссавирусов, куда входит и классический вирус бешенства; широко освещены эпизоотологические данные по бешенству различных видов животных; прослежена эволюция и особенности проявления бешенства в современных условиях.

Показана эпизоотическая обстановка по бешенству на территории России и в сопредельных странах (Финляндии, Польше, странах Балтии, Белоруссии, Украине, Казахстане, Монголии и Китае) за последние годы, описаны методы борьбы и ликвидации болезни в странах СНГ. Приведены результаты эпизоотологического мониторинга бешенства у животных на территории

России, дана оценка риска и экономического ущерба при бешенстве у животных, обозначена социальная значимость заболевания.

Рукопись содержит разделы о достижениях сотрудников ФГБУ «ВНИИЗЖ» по изучению полевых изолятов и вакцинных штаммов вируса бешенства, использованию моноклональных антител, а также о научных разработках методик по выявлению генома вируса бешенства в ПЦР, нуклеотидному секвенированию и филогенетическому анализу. На их основе был разработан «Комплекс совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с бешенством на период до 2025 года», который был рассмотрен и утвержден Решением глав правительств Содружества Независимых Государств 1 июня 2018 г. в городе Душанбе.

Монография К. Н. Груздева, А. Е. Метлина «Бешенство животных» вносит большой вклад в дело борьбы с заболеванием в нашей стране, способствует закреп-

лению достижений российских ученых в исследовании бешенства животных.

Авторами в процессе аналитического изучения имеющихся литературных источников подчеркнута необходимость системной борьбы с бешенством и международного сотрудничества. Предупреждение такой болезни, как бешенство, является важной задачей ветеринарной и медицинской науки.

Монография содержит большой объем научных данных фундаментального и прикладного характера, собственные аналитические обобщения и выводы. Ее можно рекомендовать представителям ветеринарного и санитарно-эпидемиологического надзора, научным работникам, учащимся различного уровня (аспирантам, слушателям ФПК, студентам), специалистам, связанным с решением вопросов по профилактике и борьбе с бешенством, а также всему населению России для предупреждения заболевания животных и человека.

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 желанием выразить благодарность определенным людям).
 7. **Для цитирования**
 8. **Конфликт интересов**
 9. **Для корреспонденции** (фамилия, имя, отчество (полностью), ученая степень, научное звание, должность, адрес, электронная почта).
 10. **Введение**
 11. **Материалы и методы**
 12. **Результаты и обсуждение**
 13. **Выводы или заключение**
 14. **Список литературы** (*ванкуверский стиль* – расположение источников в порядке их цитирования; количество цитируемых работ в оригинальных статьях – около 30, в обзорах – не более 60).
 15. **Информация об авторах** (фамилия, имя, отчество (полностью), ученая степень, научное звание, должность, город, страна).
 16. К размещению принимаются иллюстрированные материалы (фото, графики) хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате .tif или .jpg (рисунки, не соответствующие требованиям, будут исключены из статей, поскольку достойное их воспроизведение типографским способом невозможно).
- Работа должна быть представлена в редакторе WORD, формат DOC, шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12 пт, межстрочный интервал – одинарный, размер полей – по 2 см, отступ в начале абзаца – 1 см, форматирование по ширине.
- Рисунки, таблицы, схемы, графики и пр. должны быть обязательно пронумерованы, иметь источники и уместиться в печатное поле страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком. Максимальное суммарное количество таблиц и рисунков в одной статье должно быть не более 5.
- Оригиналы и копии присланных статей не возвращаются. Авторы должны гарантировать, что поданный материал не был ранее опубликован. Важным условием для принятия статей в журнал «Ветеринария сегодня» является выполнение всех вышеперечисленных требований редакции.



РЕГИОНАЛЬНАЯ РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ МЭБ ПО ЯЩУРУ

OIE REGIONAL REFERENCE LABORATORY
FOR FOOT AND MOUTH DISEASE

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ МЭБ ПО ВЫСОКОПАТОГЕННОМУ И НИЗКОПАТОГЕННОМУ ГРИППУ ПТИЦ И НЬЮКАСЛСКОЙ БОЛЕЗНИ

OIE REFERENCE LABORATORY FOR HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA
AND LOW PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA (POULTRY) AND NEWCASTLE DISEASE

В ФГБУ «ВНИИЗЖ» издан сборник трудов

Труды Федерального центра охраны здоровья животных / ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»). – Т. 18. – М.: Первый том, 2022. – 820 с. ISBN 978-5-907612-13-6



Вышел очередной том сборника «Труды Федерального центра охраны здоровья животных» (том 18), в котором опубликованы материалы VI Международной научной конференции «Достижения ученых – в ветеринарную практику», посвященной 60-летию учреждения аспирантуры ФГБУ «ВНИИЗЖ». В работе конференции приняли участие ведущие ученые, специалисты в области ветеринарии, представители научных учреждений и высших учебных заведений России, Беларуси и Казахстана, свои доклады представили аспиранты и соискатели.

В научное издание вошли результаты оригинальных исследований по актуальным проблемам инфекционной патологии животных, биотехнологии, эпизоотологии, диагностики, профилактики и лечения болезней сельскохозяйственных, домашних и диких животных, а также птиц, рассмотрены вопросы безопасности и качества пищевых продуктов, продовольственного сырья и кормов.

ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» приглашает научных сотрудников, соискателей и аспирантов к сотрудничеству в рамках публикации своих работ в ежегодном сборнике «Труды Федерального центра охраны здоровья животных»!

Издание освещает фундаментальные и прикладные проблемы в следующих научных областях:

- ветеринарная вирусология и микробиология;
- серологический и эпизоотологический мониторинг;
- диагностика инфекционных заболеваний животных;
- биотехнология;
- средства специфической профилактики инфекционных заболеваний животных;
- биобезопасность;
- безопасность пищевой продукции и кормов.

К опубликованию принимаются научные и аналитические статьи, представляющие собой результаты завершённых исследований, обладающие новизной, не публиковавшиеся ранее и соответствующие стандартам публикационной этики. Все материалы проверяются на соответствие тематике сборника и требованиям к научному уровню, а также на отсутствие плагиата. Статьи публикуются после рекомендации рецензента при положительном решении редколлегии.

СТРУКТУРА ПРИНИМАЕМЫХ К ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ:

1) УДК; 2) название статьи; 3) имя, отчество, фамилия авторов, место работы, город, страна, ORCID ID, e-mail; 4) резюме 200–250 слов; 5) ключевые слова; 6) благодарности/финансирование исследования; 7) для цитирования; 8) конфликт интересов; 9) для корреспонденции (ФИО 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 (расположение источников в порядке их цитирования); 15) информация об авторах (ФИО полностью, ученая степень, научное звание, должность, город, страна).

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.

С 2010 года сборник включен в Российский индекс научного цитирования (РИНЦ). Электронные версии издания размещаются на сайте <https://elibrary.ru>. Всем статьям присваивается DOI.

«Труды Федерального центра охраны здоровья животных» (том 19) будут опубликованы в декабре 2023 г.

КОНТАКТНОЕ ЛИЦО: Никешина Татьяна Борисовна
e-mail: nikeshina@arriah.ru

Телефоны: +7 (4922) 26-15-12, 26-17-65, 26-19-88, доб. 22-27