



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

VETERINARY SCIENCE TODAY

МАРТ | MARCH

ТОМ 12 № 1 2023

SCIENTIFIC JOURNAL

БИОТЕХНОЛОГИЯ

Современные подходы к созданию безопасных
и эффективных генно-инженерных
антирабических вакцин для животных

стр. 6



Биологическая,
цитоморфологическая
и кариологическая
гетерогенность постоянных линий
клеток, полученных из органов
домашней свиньи (*Sus scrofa* L.)

стр. 13

Изучение культуральных
свойств изолята
возбудителя
коронавирусного энтерита
собак в различных
культурах клеток

стр. 23

Пространственно-временной
анализ распространения
африканской чумы свиней
в популяции диких кабанов
на территории Российской
Федерации в 2007–2022 гг.

стр. 57

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.

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

МАРТ ТОМ 12 № 1 2023

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

QUARTERLY SCIENTIFIC JOURNAL

MARCH VOLUME 12 No. 1 2023

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: Extreme Media / 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

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

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

Гулюкин Михаил Иванович — д-р вет. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки РФ, ФГБНУ «Федеральный научный центр — Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко», г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-7489-6175>; AuthorID: 112679; Scopus Author ID: 56114346900; ResearcherID: V-4640-2017

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

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

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

Кононов Александр Владимирович — д-р 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>

Ломоко Юрий Васильевич — канд. вет. наук, доцент, РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелеского», г. Минск, Беларусь; <https://orcid.org/0000-0002-9611-8286>; Scopus Author ID: 55996656700; ResearcherID: AAE-5001-2019

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

Махамат Нгуерабе Ямтитин — 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>

Русалев Владимир Сергеевич — д-р вет. наук, профессор, 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 УрФАНИЦ 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. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Издатель: ООО «Вейнард», 129626, г. Москва, проспект Мира, д. 102, стр. 31, комн. 12
Адрес редакции: 600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец, ФГБУ «ВНИИЗЖ»
Типография: ООО «ГРАН ПРИ», 152900, Ярославская область, г. Рыбинск, ул. Луговая, 7
Подписано в печать: 17 марта 2023 года
Дата выхода в свет: 31 марта 2023 года

Creative Commons
Attribution 4.0 License



16+

The mission of the publication is the delivery of information on basic development trends of veterinary science and practice and highlighting of vital issues and innovative developments in veterinary area for scientific community

Editor-in-Chief: Konstantin N. Gruzdev – Dr. Sci. (Biology), Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>; AuthorID: 304722; Scopus Author ID: 6506731135; e-mail: gruzdev@arriah.ru; Tel.: +7 (4922) 45-37-96

Editorial Director: Julia Melano, Advisor to the Head of the Federal Service for Veterinary and Phytosanitary Surveillance (Rosselkhoznadzor), Moscow, Russia, e-mail: j.melano@ya.ru

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

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

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

Alexander V. Kononov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5523-3261>

Petr A. Krasochko – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Dr. Sci. (Biology), Professor, EE "The Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine", Vitebsk, Belarus; <https://orcid.org/0000-0002-4641-4757>; Scopus Author ID: 6504022390

Elena V. Kuzminova – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Krasnodar Research Veterinary Institute – Detached Unit FSBS "Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine", Krasnodar, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4744-0823>

Yuri V. Lomako – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Research Republican Unitary Enterprise the Institute of Experimental Veterinary Medicine n. a. S. N. Vyshelesky, Minsk, Belarus; <https://orcid.org/0000-0002-9611-8286>; Scopus Author ID: 55996656700; ResearcherID: AAE-5001-2019

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

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

Artem Ye. Metlin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Vienna, Austria, e-mail: metlin@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, FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3751-2168>; Scopus Author ID: 7103128956

Natalia V. Mischenko – Dr. Sci. (Biology), Associate Professor, Vladimir State University, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3643-3129>; AuthorID: 66095; Scopus Author ID: 7004534956

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

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

Ivan N. Nikitin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), FSBEI HE "Kazan State Academy of Veterinary Medicine n. a. N. E. Bauman", Kazan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3981-0882>; ResearcherID: F-5330-2019

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

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

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

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

Vladimir S. Rusalev – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4972-6326>

Irina P. Savchenkova – Dr. Sci. (Biology), Professor, FSBSI "Federal Scientific Centre VIEV", Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3560-5045>; AuthorID: 116034; Scopus Author ID: 6506749368; ResearcherID: D-3777-2014

Marko Samardžija – PhD/DVM, Professor, University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine, Zagreb, Croatia; <https://orcid.org/0000-0003-0402-3173>; Scopus Author ID: 8410731800

Alexander A. Sidorchuk – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Moscow, Russia; AuthorID: 508887

Pavel N. Sisayagin – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1085-220X>

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

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

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

Suleiman M. Suleymanov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Honorary Scientist of the Russian Federation, Voronezh State Agrarian University n. a. Emperor Peter the Great, Voronezh, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0461-9885>

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

Ilya A. Chvala – Cand. Sci. (Veterinary Medicine), FGBI "Federal Centre for Animal Health", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1659-3256>; Scopus Author ID: 57204228517

Alexey G. Shakhov – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, RAS Associate Member, SSI "All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy of the RAAS", Voronezh, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6177-8858>

Irina A. Shkuratova – Dr. Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Ural Research Veterinary Institute – FSBSI UrfASRC, UrB of RAS, Yekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0025-3545>; AuthorID: 482688

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

Design and composition: Maria Bondar
Technical editor: Elena Guseva
Coordinating Editor: Julia Migulina
Content editor of FGBI "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, FGBI "ARRIAH"
Publisher: 000 "Veinard", 129626, Moscow, 102 Prospect Mira, bld. 31, office 12
Editorial Board Office: 600901, Vladimir, Yur'evets, FGBI "ARRIAH"
Printing Office: 000 "Grand Prix", 152900, Yaroslavl Oblast, Rybinsk, Lugovaya str., 7
Approved for print: March 17, 2023
Issued: March 31, 2023

Creative Commons
Attribution 4.0 License



16+

Содержание

ОБЗОРЫ | БИОТЕХНОЛОГИЯ

- 6** Современные подходы к созданию безопасных и эффективных генно-инженерных антирабических вакцин для животных
М. И. Доронин, А. Мазлум, Д. В. Михалишин, М. Н. Митрофанова, А. Ю. Сухарьков, В. В. Киселева, А. В. Спрыгин

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БИОТЕХНОЛОГИЯ

- 13** Биологическая, цитоморфологическая и кариологическая гетерогенность постоянных линий клеток, полученных из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.)
Б. Л. Манин, Е. А. Трофимова, В. Л. Гаврилова, О. С. Пузанкова
- 23** Изучение культуральных свойств изолята возбудителя коронавирусного энтерита собак в различных культурах клеток
А. А. Комарова, Т. С. Галкина

ОБЗОРЫ | БОЛЕЗНИ МЕЛКИХ ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

- 29** FeLV-индуцированный лейкоз кошачьих как естественная модель для изучения патофизиологии лейкозов (обзор)
Т. В. Табакаева, А. В. Цыбульский, К. А. Баранчугова, И. В. Галкина, М. Ю. Щелканов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | КОРОНАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ (COVID-19)

- 38** Изучение особенностей распределения модельных коронавирусов в органах и тканях кошачьих в контексте изучения патогенеза COVID-19
В. Н. Афонюшкин, О. Е. Сысоева, О. С. Козлова, Д. В. Шамовская
- 45** Разработка тест-системы для обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 в биоматериале от животных методом полимеразной цепной реакции
А. М. Тимина, А. С. Яковлева, М. В. Тиманов, М. В. Бирюченкова, Е. С. Орлова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

- 52** Сравнительные аспекты диагностики лейкоза крупного рогатого скота при применении реакции иммунодиффузии и иммуноферментного анализа
А. Р. Мустафаев, М. О. Баратов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ СВИНЕЙ

- 57** Пространственно-временной анализ распространения африканской чумы свиней в популяции диких кабанов на территории Российской Федерации в 2007–2022 гг.
О. И. Захарова, А. А. Блохин, О. А. Бурова, И. В. Яшин, Ф. И. Коренной

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

- 66** Оценка эффективности кровяно-капельной реакции агглютинации при диагностике туберкулеза кур
М. О. Баратов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

- 73** Клинико-морфологические особенности сальмонеллеза у коров и телят на фоне теплового стресса
Л. И. Дроздова, Е. Н. Шилова, И. А. Шкуратова, М. В. Ряпосова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

- 79** Организация процесса перевозки живых животных в Российской Федерации
М. А. Шибаев, И. М. Клиновицкая, А. В. Бельчихина, А. К. Караулов
- 87** Метод анализа иерархий как инструмент поддержки принятия решений при оценке риска заноса трансграничных инфекционных болезней животных на территорию Российской Федерации и на ранее благополучные территории
Н. В. Лебедев, А. С. Иголкин, К. Н. Груздев, Д. Г. Спирин, М. А. Фарух, Н. В. Ермилов, Г. Г. Еремин

Contents

REVIEWS | BIOTECHNOLOGY

- 6** Modern approaches to production of safe and effective genetically modified rabies vaccines for animals
M. I. Doronin, A. Mazloun, D. V. Mikhlishin, M. N. Mitrofanova, A. Yu. Sukharkov, V. V. Kiseleva, A. V. Sprygin

ORIGINAL ARTICLES | BIOTECHNOLOGY

- 13** Biological, cytomorphological and karyological heterogeneity of transformed cell lines derived from domestic pig (*Sus scrofa* L.) organs
B. L. Manin, E. A. Trofimova, V. L. Gavrilova, O. S. Puzankova
- 23** Study of cultural properties of canine enteric coronavirus isolate in different cell cultures
A. A. Komarova, T. S. Galkina

REVIEWS | DISEASES OF SMALL PETS

- 29** FeLV-induced feline leukemia as a natural model for leukemia pathophysiology study (review)
T. V. Tabakaeva, A. V. Tsybulsky, K. A. Baranchugova, I. V. Galkina, M. Yu. Shchelkanov

ORIGINAL ARTICLES | CORONAVIRUS DISEASE (COVID-19)

- 38** Features of model coronaviruses distribution in feline organs and tissues in the context of COVID-19 pathogenesis study
V. N. Afonyushkin, O. E. Sysoeva, O. S. Kozlova, D. V. Shamovskaya
- 45** Development of polymerase chain reaction kit for detection of SARS-CoV-2 RNA in biological samples collected from animals
A. M. Timina, A. S. Yakovleva, M. V. Timanov, M. V. Biryuchenkova, Ye. S. Orlova

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 52** Comparative assessment of immunodiffusion and enzyme-linked immunosorbent assay used for bovine leukosis diagnosis
A. R. Mustafayev, M. O. Baratov

ORIGINAL ARTICLES | PORCINE DISEASES

- 57** Spatiotemporal analysis of African swine fever spread in wild boar population in Russian Federation, 2007–2022
O. I. Zakharova, A. A. Blokhin, O. A. Burova, I. V. Yashin, F. I. Korennoy

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

- 66** Evaluation of the effectiveness of blood-drop agglutination test for chicken tuberculosis diagnosis
M. O. Baratov

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 73** Clinical and morphological features of salmonellosis in cows and calves affected by heat stress
L. I. Drozdova, E. N. Shilova, I. A. Shkuratova, M. V. Ryaposova

ORIGINAL ARTICLES | GENERAL ISSUES

- 79** Organization of live animal transportation process in the Russian Federation
M. A. Shibayev, I. M. Klinovitskaya, A. V. Belchikhina, A. K. Karaulov
- 87** Analytical hierarchy process as a tool supporting a decision-making for assessment of the risk of transboundary infectious animal disease introduction to the Russian Federation and previously disease-free territories
N. V. Lebedev, A. S. Igolkin, K. N. Gruzdev, D. G. Spirin, M. A. Farukh, N. V. Ermilov, G. G. Eremin



Современные подходы к созданию безопасных и эффективных генно-инженерных антирабических вакцин для животных

М. И. Доронин, А. Мазлум, Д. В. Михалишин, М. Н. Митрофанова, А. Ю. Сухарьков, В. В. Киселева, А. В. Спрыгин

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

РЕЗЮМЕ

Бешенство является одним из опасных зоонозов, который вызывает поражение центральной нервной системы, приводит к энцефаломиелим, параличам с неизбежным летальным исходом. Заболевание наносит значительный экономический ущерб, который связан с гибелью животных, ликвидацией последствий вспышек болезни, введением строгих ограничений, налагаемых на внутреннюю и международную торговлю продукцией животноводства, проведением профилактических и карантинных мероприятий, осуществлением лабораторных исследований. Для борьбы с бешенством Всемирная организация здравоохранения животных рекомендует вакцинопрофилактику. Для глобальной профилактики и борьбы с этим заболеванием производимого количества доступных высококачественных вакцин недостаточно. Стабильные аттенуированные производственные штаммы вируса бешенства с широкой перекрестной активностью против различных вариантов возбудителя являются идеальными кандидатами для создания надежных, безопасных и эффективных препаратов. На сегодняшний день применен ряд подходов для снижения вирулентности вируса и повышения безопасности антирабических вакцин. Большую популярность имеют методы обратной генетики, которые представляют собой новые подходы к исследованию функции конкретного гена путем анализа фенотипических эффектов за счет непосредственного манипулирования последовательностями нуклеотидов. Данная группа методов произвела революцию в молекулярной биологии, стала мощным инструментом для изучения генетики РНК-содержащих вирусов и широко используется в исследованиях возбудителя бешенства. Применение методов обратной генетики позволило проводить модификации производственных штаммов вируса бешенства для использования при изготовлении современных генно-инженерных антирабических препаратов, вызывающих стойкий и длительный иммунитет. В представленном обзоре кратко изложены общие подходы к разработке вирусных векторов с целью создания генно-инженерных вакцин против бешенства.

Ключевые слова: обзор, вирус бешенства, гены, генно-инженерные антирабические вакцины, методы обратной генетики

Благодарности: Работа выполнена в рамках исследовательской программы «Создание комплекса средств защиты против экономически и социально значимых болезней животных на основе отобранных методами геномного секвенирования производственных штаммов микроорганизмов», осуществляемой при выполнении отдельных мероприятий Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы, проводимых при реализации федерального проекта «Развитие масштабных научных и научно-технологических проектов по приоритетным исследовательским направлениям» национального проекта «Наука и университеты».

Для цитирования: Доронин М. И., Мазлум А., Михалишин Д. В., Митрофанова М. Н., Сухарьков А. Ю., Киселева В. В., Спрыгин А. В. Современные подходы к созданию безопасных и эффективных генно-инженерных антирабических вакцин для животных. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 6–12. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-6-12.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Доронин Максим Игоревич, кандидат биологических наук, заведующий сектором лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: doronin@arriah.ru.

Modern approaches to production of safe and effective genetically modified rabies vaccines for animals

M. I. Doronin, A. Mazloun, D. V. Mikhailishin, M. N. Mitrofanova, A. Yu. Sukharkov, V. V. Kiseleva, A. V. Sprygin

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

SUMMARY

Rabies is a dangerous zoonotic disease that affects the central nervous system, causes encephalomyelitis and paralyses and is almost invariably fatal. The disease causes significant economic losses associated with the death of animals, outbreak consequences, strict restrictions on domestic and international trade in livestock products, preventive and quarantine measures, laboratory tests. The World Organization for Animal Health recommends vaccination to control rabies. Taking into account that there is a lack of affordable high-quality vaccines to globally prevent and control the disease, stable, attenuated production strains of rabies virus with broad cross-activity against various variants of the pathogen shall be considered as ideal candidates to produce high-quality, safe and effective vaccines. Currently, some approaches are applied to reduce the virus virulence and improve safety of rabies vaccines. Reverse genetics is very popular now. It provides new approaches to study functions of a specific gene by analyzing phenotypic effects after direct manipulations with nucleotide sequences. The methods of reverse genetics have revolutionized molecular biology and have become a powerful tool to study genetics of RNA viruses. These methods are widely used to study rabies

© Доронин М. И., Мазлум А., Михалишин Д. В., Митрофанова М. Н., Сухарьков А. Ю., Киселева В. В., Спрыгин А. В., 2023

virus. The use of reverse genetics has made it possible to modify rabies virus production strains for manufacture of modern genetically modified rabies vaccines that induce a persistent and long-term immunity. The review briefly covers general approaches to development of viral vectors with the purpose to create genetically modified rabies vaccines.

Keywords: review, rabies virus, genes, genetically modified rabies vaccines, methods of reverse genetics

Acknowledgements: The work has been done as part of the research program “Creating protection tools for economically and socially significant animal diseases based on production strains of microorganisms selected by genomic sequencing”, implemented within some measures of the Federal Program for Genetic Technologies Development for 2019–2027, taken under the Federal Project “Development of large-scale scientific and scientific-technological projects in priority research areas” of the national project “Science and Universities”.

For citation: Doronin M. I., Mazloum A., Mikhailishin D. V., Mitrofanova M. N., Sukharkov A. Yu., Kiseleva V. V., Sprygin A. V. Modern approaches to production of safe and effective genetically modified rabies vaccines for animals. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 6–12. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-6-12.

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

For correspondence: Maksim I. Doronin, Candidate of Science (Biology), Head of Sector, Laboratory for FMD Prevention, FGBI “ARRIAH”, 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: doronin@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Бешенство – острое вирусное заболевание, поражающее почти все виды млекопитающих, включая человека [1]. В случае развития клинических признаков летальность составляет 100%. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, более 59 000 случаев смерти людей ежегодно в мире обусловлены укусами инфицированных вирусом бешенства животных.

Для успешного искоренения заболевания необходимо: выполнять комплекс мер по вакцинопрофилактике диких плотоядных животных (программа по оральной иммунизации); осуществлять вакцинопрофилактику домашних животных; проводить по современной схеме лечебно-профилактическую иммунизацию обратившихся за антирабической помощью людей и профилактическую вакцинацию людей групп риска, прежде всего профессионального; контролировать проводимые антирабические мероприятия, включающие в себя блок задач и методик. Учитывая, что для глобальной профилактики и борьбы с этим заболеванием производимого количества доступных высококачественных вакцин недостаточно, идеальными кандидатами для создания относительно недорогих, надежных, безопасных и эффективных препаратов представляются стабильные аттенуированные производственные штаммы вируса бешенства с широкой перекрестной активностью против различных вариантов возбудителя [2]. Однако разработка таких препаратов требует значительных усилий.

С момента получения первой антирабической вакцины Пастером в конце XIX века препараты значительно усовершенствовались, а иммунизация стала проводиться как для домашних и сельскохозяйственных животных, так и для видов – резервуаров возбудителя [3]. Долгое время для изготовления вакцин применяли ткани головного мозга, пораженные вирусом. Сообщалось о серьезных побочных реакциях при использовании антирабических вакцин из нервных тканей либо из тканей развивающихся эмбрионов птиц. Появление современных технологий промышленного культивирования и ферментации клеток значительно расширило возможности производства вакцин высо-

кого качества с заданным количеством иммуногенных компонентов [2].

Для борьбы с бешенством широко применяются инактивированные и аттенуированные вакцины, при этом они имеют определенные недостатки, наиболее важные из которых связаны с их безопасностью и жесткими требованиями к уровню биологической безопасности лаборатории. Современные вакцины против бешенства, представляющие собой химически инактивированный цельный вирусный препарат, соединенный с адъювантом, либо живые вакцины (чаще всего используются в энзоотических районах), оказались очень успешными в снижении числа вспышек во всем мире [4, 5]. Однако при использовании живых антирабических вакцин существует риск возврата вирулентности применяемого штамма, что крайне опасно. Кроме того, важной проблемой, связанной с изготовлением коммерческих вакцин, является необходимость в дорогостоящих производственных мощностях, локализованных в помещениях с уровнем биобезопасности BSL-3, и образование большого количества инфекционного агента для производства препарата. Возможность обойти эти ограничения появилась за счет разработок генно-инженерных вакцин, которые безопасны в производстве. Применяемые модифицированные конструкции являются неинфекционными и могут использоваться для изготовления препаратов в лабораториях уровня BSL-2. Но при этом необходимо доказывать отсутствие вирулентности вируса, полученного методами обратной генетики, или его принадлежность к 3–4-й группам патогенности [6–8].

В 1994 г. M. J. Schnell et al. удалось клонировать кДНК каждого гена вируса бешенства и получить модифицированный вирус. В последнее время в связи с накоплением большого количества данных о последовательностях генов для определения их функций стали применять методы обратной генетики. Сущность данного подхода заключается в движении «от генотипа к фенотипу», а именно в проведении различных манипуляций с последовательностями генов, изменяя или выключая тот или иной ген, и последующем анализе того, какие изменения они вызовут [9]. При этом

в отличие от классических подходов методы обратной генетики позволяют использовать нуклеотидные последовательности для анализа специфической роли гена в определении фенотипа.

В настоящее время существуют 4 основные группы данных методов: замещение/выключение гена путем гомологичной рекомбинации; РНК-интерференция/генный сайленсинг; инсерционный Т-ДНК-мутагенез (T-DNA tagging); TILLING (Targeting Induced Local Lesions in Genomes). Следует отметить, что создание методов обратной генетики значительно облегчило проведение молекулярно-биологического анализа РНК-содержащих вирусов за счет появления возможности проводить исследования непосредственно с молекулами рибонуклеиновой кислоты [10].

Вследствие проведения реверсии *in vitro* РНК вируса преобразуется в соответствующую ей кДНК. Дальнейшие манипуляции с последовательностью полученной нуклеиновой кислоты, такие как сайт-специфическая мутация, делеция, вставка, замена участка гена, либо полностью всего гена, могут быть выполнены на уровне кДНК для изучения структуры и функции конкретного гена [11]. Так, M. J. Schnell et al. в 1994 г. применяли методы обратной генетики для исследования ослабленного фиксированного штамма SAD-B19 вируса бешенства [9]. В последующем многие исследователи стали использовать этот мощный инструмент для изучения молекулярной биологии вирусов бешенства генетической группы RABV. Методы обратной генетики открыли широкие перспективы для разработки современных генно-инженерных вакцин против бешенства, которые гораздо безопаснее, чем традиционные вакцины [10, 12, 13].

В представленном обзоре кратко изложены общие подходы к разработке вирусных векторов с целью создания генно-инженерных антирабических вакцин. Проанализировано множество работ, посвященных применению методов обратной генетики вирусов с отрицательной цепью РНК, а также истории и разработке вакцин против бешенства [2, 3, 5, 7, 14–16]. В статье обобщены применяемые в настоящее время технологии с использованием методов обратной генетики для снижения вирулентности и повышения безопасности вакцин против бешенства. Рассматриваются также общие вопросы, касающиеся применения данной группы методов для работы с вирусами, геном которых представлен РНК с отрицательным смыслом.

КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОЕНИЯ ВИРУСА БЕШЕНСТВА

Возбудителем бешенства является нейротропный вирус, принадлежащий к роду *Lyssavirus* семейства *Rhabdoviridae*. За подавляющее большинство случаев ответственен вирус бешенства генетической группы RABV (*Rabies virus*) [8].

Структура вириона представляет собой пулевидную частицу длиной примерно 250 нм и диаметром 70 нм. Геном вируса бешенства – одноцепочечная РНК отрицательной полярности размером 11 000–12 000 н. о., кодирующая следующие пять структурных белков в консервативном порядке 3'→5': нуклеопротеин (N-белок), фосфопротеин (Р-белок), матриксный белок (М-белок), гликопротеин (G-белок) и РНК-зависимую РНК-полимеразу (L-белок) [4].

Транскрипция начинается с синтеза короткой лидерной РНК с 3'-конца геномной РНК. Вирусная нукле-

иновая кислота служит матрицей для транскрипции РНК-зависимым РНК-полимеразным комплексом, состоящим из L- и Р-белков, что приводит к синтезу мРНК для экспрессии N-, Р-, М-, G- и L-белков. Репликация геномов с отрицательной цепью приводит к образованию антигеномов, которые служат шаблонами для синтеза геномов с отрицательной цепью. Геномная и комплементарная ей антигеномная РНК плотно инкапсулируются нуклеопротеином с образованием спирального рибонуклеопротеина. В качестве шаблона для репликации и транскрипции подходит только рибонуклеопротеин, а не свободная РНК. Вирусный капсид окружен мембраной, полученной из клетки-хозяина, которая взаимодействует с матриксным белком и гликопротеином вируса бешенства [17–19].

Каждое соединение между генами вируса бешенства в составе генома содержит последовательность, определяющую конец вышестоящего гена, межгенный участок и начальный фрагмент для нижестоящего гена. Эти последовательности функционируют как сигнал для полиаденилирования, а также для инициации, укупорки и метилирования нисходящей РНК. Межгенные участки вируса бешенства N-P, P-M, M-G и G-L (нетранслируемая псевдогенная ψ -область) составляют 2, 5, 5 и 24 нуклеотида соответственно [14, 20].

АНАЛИЗ ГЕНОВ ВИРУСА БЕШЕНСТВА ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ГЕНО-ИНЖЕНЕРНЫХ АНТИРАБИЧЕСКИХ ВАКЦИН

G-ген вируса бешенства и его экспрессия. Гликопротеин – белок вируса бешенства, который локализован на поверхности пулевидного вириона. Он является основным структурным белком и антигеном вируса бешенства, который вызывает высокий иммуногенный ответ. G-белок выполняет две основные функции: определяет патогенность вирусной частицы и отвечает за индуцирование гуморального и клеточного иммунитета против данного возбудителя [19, 21]. Кроме того, гликопротеин обеспечивает взаимодействие вириона с соответствующими рецепторами на поверхности клеток для его проникновения внутрь, определяет нейротропный характер заражения организма [22]. Важно отметить, что в отличие от полевых изолятов ослабленные вакцинные штаммы вируса бешенства способны синтезировать более высокие уровни гликопротеина в инфицированных нейронах [23]. Исследователи C. E. Rupprecht et al. обращают внимание на то, что ослабленные штаммы возбудителя бешенства вызывают массовый апоптоз нейронов, в то время как при заражении патогенным уличным изолятом данные явления наблюдаются гораздо реже [8]. Искусственное внесение мутаций в G-ген вируса бешенства позволяет получать материал для создания антирабических вакцин нового поколения на основе генно-инженерных конструкций.

Генные конструкции вируса бешенства, содержащие две и три копии G-гена. Как показывают результаты исследований ряда авторов, модификация вируса бешенства, содержащего две копии G-гена, позволяла увеличивать экспрессию гликопротеина, что значительно улучшало эффективность вакцин, повышая их иммуногенность. Патогенность штаммов при этом резко снижалась. Исследователи также показали, что уровень экспрессии G-белка обратно коррелирует со степенью патогенности вируса бешенства [21, 24, 25]. Повышенный синтез гликопротеина связан с усиленным

апоптозом, который способствует индукции процесса регуляции генов, связанных с иммунными реакциями хозяина, наблюдаемыми в нейронах, инфицированных ослабленными штаммами вируса [21].

Коллективом японских ученых J. Hosokawa-Muto et al. был создан штамм R(NPMGGL) рекомбинантного вируса бешенства, несущий гены двойного гликопротеина G. Данная конструкция была получена с помощью методов обратной генетики с использованием клонированной кДНК штамма RC-HL. Биологические свойства созданного вируса сравнивались с таковыми у рекомбинантного штамма RC-HL (rRC-HL). Интенсивность репродукции штамма R(NPMGGL) вируса бешенства в клеточных линиях и вирулентность для взрослых мышей были почти такими же, как у штамма rRC-HL. При этом содержание G-белка в очищенном вирионе штамма R(NPMGGL) и уровень экспрессии гликопротеина в инфицированных клетках были в 1,5 раза выше, чем у штамма rRC-HL. В результате последовательных пассажей штамма R(NPMGGL) в культуре клеток уровень экспрессии G-белка сохранялся, титр инфекционной активности вируса повышался по мере адаптации к клеткам. Было также показано, что штамм R(NPMGGL) обладает более высокой иммуногенностью, чем штамм rRC-HL [6]. Таким образом, модифицированный штамм вируса бешенства, несущий двойной G-ген, позволит в будущем проводить разработки новых генно-инженерных вакцин против бешенства. Следует также отметить, что в данном случае речь идет об инактивированном препарате, поскольку в качестве единственной модификации выступает дублирование G-гена, позволяющее значительно увеличить концентрацию иммуногенных компонентов и, как следствие, иммуногенность вакцины.

В своей работе Y. Tan et al. использовали саморасцепляющуюся последовательность 2A-гена вируса ящура для экспрессии двойных или тройных копий G-гена вируса бешенства из одной открытой рамки считывания, полученной из аденовируса человека 5-го типа (AdHu-5). Рекомбинантные аденовирусы продуцируют вирус в сходных титрах, что указывает на то, что вставка двойных или тройных копий G-гена вируса бешенства, связанного с последовательностью 2A-гена вируса ящура, не влияет на репликацию вируса. Гликопротеин эффективно экспрессировался конструкциями, содержащими последовательность 2A-гена, и сохранял свои антигенные свойства. Саморасцепляющийся пептид 2A опосредовал эффективную генерацию индивидуального гликопротеина вируса бешенства при оценке транзиторной экспрессии. Методами проточной цитометрии доказали, что уровни экспрессии G-гена были выше в рекомбинантных аденовирусных конструкциях, несущих несколько копий гена гликопротеина вируса бешенства [26].

Таким образом, повышение уровня экспрессии G-гена обладает рядом преимуществ для создания генно-инженерных вакцин: 1) существенно улучшает производственные мощности и биобезопасность; 2) снижает экономические затраты. Эти факторы имеют решающее значение для современного изготовления безопасных и эффективных доступных антирабических вакцин. Таким образом, рекомбинантный вирус бешенства, экспрессирующий две или три копии гликопротеина, является кандидатом для разработки генно-инженерных антирабических вакцин нового поколения.

Значимые нуклеотидные замены в G-гене вируса бешенства. По данным M. Faber et al., замена одной аминокислоты в положении 333 гликопротеина с положительно заряженного остатка аргинина (Arg) или лизина (Lys) на глутамин (Gln) либо изолейцин (Ile) делает вирулентный штамм вируса бешенства апатогенным для взрослых мышей при интрацеребральном введении [21]. При этом есть сведения, что аминокислоты гликопротеина в позиции 333 не полностью ответственны за патогенность вируса. Соответственно, некоторые штаммы возбудителя бешенства, имеющие замену на Gln₃₃₃, сохраняют нейроинвазивную способность и патогенность [17].

При анализе методами обратной генетики штамма RC-HL вируса бешенства Y. Ito et al. пришли к выводу о том, что аминокислоты, расположенные между позициями 164–303 в G-белке, особенно аминокислоты в положениях 242, 255 и 268, также играют важную роль в определении апатогенности штамма [27]. В процессе исследования M. Faber et al. обнаружили, что аминокислотная замена в позиции 194 гликопротеина с аспарагина (Asn) на лизин (Lys) исключительно ответственна за восстановление патогенности у непатогенного, аттенуированного штамма SPBNGA вируса бешенства [21].

Учитывая опыт многих исследователей, можно сделать вывод, что при использовании рекомбинантных штаммов вируса бешенства, которые несут два или более G-генов, кодирующих гликопротеин с мутациями в позициях 149, 194 и 333, значительно снижается риск возвращения к патогенному фенотипу.

Значимые мутации в М-белке вируса бешенства. Матриксный белок вируса бешенства является многофункциональным, имеет небольшой молекулярный вес около 20–25 кДа и длину 202 а. о. Этот фосфопротеин представлен двумя изоформами M₁ и M₂, которые отличаются друг от друга степенью фосфорилирования. Матриксный белок структурно представляет собой мостик между N- и G-белком. М-ген является гораздо более консервативным по сравнению с Р-белком. Считается, что матриксный белок образует слой между гликопротеином в оболочке вириона и спиральным ядром нуклеокапсида, состоящим из РНК и N-, L-, Р-белков. М-белок является основным фактором, способствующим морфогенезу вириона [28].

В своей работе S. Finke et al. продемонстрировали, что М-белок устанавливает баланс между процессами транскрипции и репликации вируса [15, 16]. Он взаимодействует с рибонуклеопротеином вируса бешенства, который конденсирует в плотную пулевидную форму, и играет ключевую роль в сборке и почковании зрелых вирионов [29].

По данным C. Wirblich et al., в структуре матриксного белка имеется L-домен с четырьмя мотивами, одним из которых является PPxY (PPEY), замыкающийся на конце М-белка. Авторы создали конструкции с точечными мутациями и выявили, что PPEY необходим для эффективного высвобождения вириона из клеточной мембраны. Аминокислотные делеции и замены в мотиве PPEY приводят к уменьшению распространения вирусной инфекции. Сконструированные на этой основе рекомбинантные вирусы обладали ослабленной вирулентностью для мышей, при этом вызывали мощные иммунные реакции [30]. Таким образом, значимые замены в матриксном белке вируса бешенства могут позволить создавать генные конструкции для получения современных антирабических вакцин.

Значимые мутации в Р-гене вируса бешенства. Важнейшим структурным белком вируса бешенства является фосфопротеин, молекулярный вес которого составляет 260 кДа, длина около 330 а. о. N-концевая развернутая область Р-белка взаимодействует с РНК-полимеразой. Р-ген кодирует не менее четырех белков, синтезирующихся в инфицированной клетке. Фосфопротеин выполняет функцию шаперона и образует связь с N-белком, который еще не связан с вирусной РНК. С-концевой домен Р-белка связывается с комплексом «нуклеопротеин – РНК» и присоединяет полимеразный комплекс [29].

В процессе исследования M. J. Schnell et al. обнаружили иммунодоминантный сайт Р-белка, который располагается в диапазоне 191–206 а. о. и является антагонистом интерферона [9, 31, 32]. В начале века Y. Jacob et al. выявили, что легкая цепь цитоплазматического динеина, участвующая во внутриклеточном транспорте органелл, взаимодействует с фосфопротеином вируса бешенства [33]. Показано, что делеция домена Р-белка, связывающего динеин LC8, значительно подавляла репликацию и транскрипцию вируса в нейронах. Следует отметить, что такой рекомбинантный вирус отличался снижением уровня экспрессии генов в культурах нейрональных клеток, в то время как характер роста на ненейрональных клетках оставался неизменным [17, 26]. Таким образом, аминокислотные мутации в связывающем динеин домене Р-белка позволяют ослабить вирулентность вируса бешенства, а созданные на этой основе рекомбинантные вирусы дают возможность разрабатывать генно-инженерные вакцины против бешенства.

СИНТЕЗ ИНФЕКЦИОННЫХ РЕКОМБИНАНТНЫХ ВИРУСНЫХ ЧАСТИЦ С ПОМОЩЬЮ МОДИФИЦИРОВАННОЙ КДНК

В 1994 г. M. J. Schnell et al. впервые сконструировали вирус бешенства с применением клонированной кДНК [9]. Принципиальная схема данного процесса включала по меньшей мере одновременную трансфекцию в клетку четырех плазмид, кодирующих N-, P-, L-белки и полноразмерную кДНК вируса. (-)РНК вируса бешенства подвергали обратной транскрипции в антигеномную кДНК с положительным смыслом (рис.). Путем амплификации специфического гена из полноразмерной кДНК сконструировали 3 плазмиды *p-N*, *p-P*, *p-L*,

экспрессирующие N-, P- и L-белки вируса бешенства. Во избежание мутаций L-ген собирали из поэтапно клонированных фрагментов. Аналогично конструировали плазмиду, несущую информацию о всем геноме вируса бешенства (*p-геном*).

С помощью рестриктаз проводили поэтапную сборку вирусной кДНК в составе плазмиды с целью создания полноценной матрицы для реализации генетического материала вируса бешенства. Для осуществления транскрипции сконструированных плазмид использовали T7-РНК-полимеразу либо эндогенные клеточные РНК-полимеразы I или II типов. Для того чтобы получать точные 5'- и 3'-концы вирусной РНК, клонированную вирусную кДНК фланкировали автокаталитическими последовательностями рибозима. N-, P- и L-белки вируса бешенства, экспрессируемые тремя плазмидами, инкапсулируют транскрибируемую полноразмерную антигеномную смысловую РНК с образованием рибонуклеопротеина, который функционирует в качестве матрицы для дальнейшей экспрессии структурных вирусных белков и амплификации (-)РНК вируса бешенства. Основопологающим в данном случае является применение транскриптов с антигеномным смыслом, поскольку только они могут обеспечить процесс экспрессии генов и избежать гибридизации между геномной (-)РНК и плазмидными (+)РНК. Рибонуклеопротеин конденсируется в форму пули с помощью матричного белка и отделяется от цитоплазматической мембраны, где накапливались гликозилированные тримерные трансмембранные соединения. В завершении процесса формируются инфекционные вирионы, и наступает следующий цикл заражения [34–36].

В ряде работ описаны процедуры, облегчающие и повышающие эффективность создания жизнеспособного вируса бешенства. Так, для доставки РНК-полимеразы T7 вместо заражения клеток рекомбинантным вирусом осповакцины была создана клеточная линия, которая экспрессирует РНК-полимеразу T7 – BSR-T7/5 [37]. Коллективом авторов K. Inoue et al. был разработан сегментированный вариант вируса и показано, что дополнительные нуклеотиды на терминальном конце генома могут влиять на эффективность экспрессии. На 5'- и 3'-концы генома вируса бешенства были «пришиты» кодирующие последовательности

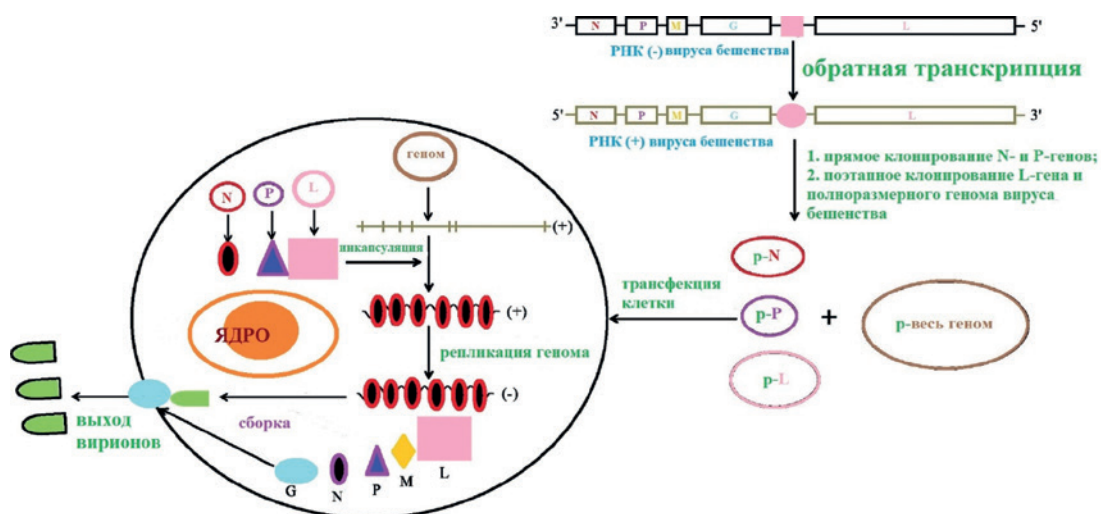


Рис. Схема процесса синтеза инфекционных рекомбинантных частиц вируса бешенства из клонированной кДНК
Fig. Synthesis of infectious recombinant rabies virus particles from cloned cDNA

двух рибозимов (HamRz и HdvRz) для получения полноразмерных транскриптов вируса с точными концами [35]. Подобные модификации значительно расширяют возможности методов обратной генетики нуклеиновой кислоты возбудителя бешенства для различных клеточных линий и позволяют быстро и эффективно генерировать рекомбинантный вирус.

Следует отметить, что учеными также проводился анализ ψ -области генома возбудителя бешенства. Они обнаружили, что вирус с выключенным псевдогеном характеризовался нормальными показателями репродукции в биологических тест-системах и не имел различий с изолятами и штаммами, которые не лишены данного региона [9, 34]. Таким образом, псевдоген ψ является идеальной мишенью для инсерций и дает возможность осуществлять различные генетические манипуляции с геномом вируса бешенства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В соответствии с руководством Всемирной организации здравоохранения животных для борьбы с бешенством рекомендуется применять вакцинацию животных. В настоящее время для этих целей используют живые, а также культуральные инактивированные сорбированные и эмульсионные антирабические вакцины. При этом существует ряд недостатков, связанных с жесткими требованиями к уровню биологической безопасности производственных лабораторий и вероятностью возврата вирулентности аттенуированных штаммов вируса бешенства [3, 11, 14].

Для снижения вирулентности вируса и повышения безопасности антирабических вакцин в настоящее время применяются методы обратной генетики [38]. Как показывают результаты исследований ряда авторов [9, 12, 31], многие свойства, присущие вирусу бешенства с отрицательной несегментированной РНК, идеально подходят для конструирования векторов доставки генов с целью разработки генно-инженерных антирабических вакцин. Простой и консервативный состав генома вируса бешенства позволяет легко применять методы генной инженерии и экспрессировать измененные гены.

Инкапсидация нуклеиновой кислоты возбудителя бешенства в рибонуклеопротеин обладает преимуществом, позволяющим значительно снизить вероятность рекомбинации и тем самым поддерживать стабильность генома [19, 38–41]. Следует учитывать высокую частоту реверсии во время репродукции вируса в инфицированной клетке, связанной с низкой точностью транскрипции, осуществляемой РНК-полимеразой, что указывает на необходимость одновременного внесения нескольких изменений.

После многочисленных исследований по внесению изменений в геном вируса бешенства с помощью методов обратной генетики стали конструировать аттенуированные живые штаммы возбудителя данного заболевания, что позволит разрабатывать современные генно-инженерные антирабические вакцины с высокими показателями безопасности и эффективности. В настоящее время исследователями делается акцент на значимые мутации, вносимые в G-, M-, P-гены вируса бешенства, приводящие к утрате патогенности. Особое внимание уделяется генным конструкциям, включающим в свой состав две и даже три копии G-гена, что позволяет получать суспензии с высокой концентрацией гликопротеина и индуцировать сильный иммунный от-

вет при введении животным. Интересным также является подход к применению методов обратной генетики для синтеза инфекционных рекомбинантных вирусных частиц с помощью модифицированной кДНК вируса бешенства.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hidaka Y., Lim C. K., Takayama-Ito M., Park C. H., Kimitsuki K., Shiwa N., et al. Segmentation of the rabies virus genome. *Virus. Res.* 2018; 252: 68–75. DOI: 10.1016/j.virusres.2018.05.017.
2. Wu X., Smith T. G., Rupprecht C. E. From brain passage to cell adaptation: the road of human rabies vaccine development. *Expert. Rev. Vaccines.* 2011; 10 (11): 1597–1608. DOI: 10.1586/erv.11.140.
3. Briggs D. J., Nagarajan T., Rupprecht C. E. Rabies vaccines. In: *Rabies: Scientific Basis of the Disease and Its Management*. Ed. by A. C. Jackson. 3rd ed. Academic Press; 2013; Chapter 13: 497–526. DOI: 10.1016/B978-0-12-396547-9.00013-4.
4. Evans J. S., Horton D. L., Easton A. J., Fooks A. R., Banyard A. C. Rabies virus vaccines: is there a need for a pan-lyssavirus vaccine? *Vaccine.* 2012; 30 (52): 7447–7454. DOI: 10.1016/j.vaccine.2012.10.015.
5. Hicks D. J., Fooks A. R., Johnson N. Developments in rabies vaccines. *Clin. Exp. Immunol.* 2012; 169 (3): 199–204. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2012.04592.x.
6. Hosokawa-Muto J., Ito N., Yamada K., Shimizu K., Sugiyama M., Minamoto N. Characterization of recombinant rabies virus carrying double glycoprotein genes. *Microbiol. Immunol.* 2006; 50 (3): 187–196. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2006.tb03785.x.
7. Nel L. H. Vaccines for lyssaviruses other than rabies. *Expert. Rev. Vaccines.* 2005; 4 (4): 533–540. DOI: 10.1586/14760584.4.4.533.
8. Rupprecht C. E., Plotkin S. A. Rabies vaccines. In: *Vaccines*. Ed. by S. A. Plotkin, W. A. Orenstein, P. A. Offit. 6th ed. Elsevier Saunders; 2013: 646–668. DOI: 10.1016/B978-1-4557-0090-5.00036-7.
9. Schnell M. J., Mebatsion T., Conzelmann K. K. Infectious rabies viruses from cloned cDNA. *EMBO J.* 1994; 13 (18): 4195–4203. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1994.tb06739.x.
10. Yin J., Wang X., Mao R., Zhang Z., Gao X., Luo Y., et al. Research advances on the interactions between rabies virus structural proteins and host target cells: accrued knowledge from the application of reverse genetics systems. *Viruses.* 2021; 13 (11):2288. DOI: 10.3390/v13112288.
11. Conzelmann K. K. Reverse Genetics of *Mononegavirales*: The Rabies Virus Paradigm. In: *Sendai Virus Vector*. Ed. by Y. Nagai. Tokyo: Springer; 2013: 1–20. DOI: 10.1007/978-4-431-54556-9_1.
12. Huang Y., Tang Q., Nadin-Davis S. A., Zhang S., Hooper C. D., Ming P., et al. Development of a reverse genetics system for a human rabies virus vaccine strain employed in China. *Virus. Res.* 2010; 149 (1): 28–35. DOI: 10.1016/j.virusres.2009.12.009.
13. Larsen D. D., Wickersham I. R., Callaway E. M. Retrograde tracing with recombinant rabies virus reveals correlations between projection targets and dendritic architecture in layer 5 of mouse barrel cortex. *Front. Neural Circuits.* 2008; 1:5. DOI: 10.3389/neuro.04.005.2007.
14. Conzelmann K. K., Cox J. H., Schneider L. G., Thiel H. J. Molecular cloning and complete nucleotide sequence of the attenuated rabies virus SAD B19. *Virology.* 1990; 175 (2): 485–499. DOI: 10.1016/0042-6822(90)90433-r.
15. Finke S., Conzelmann K. K. Recombinant rhabdoviruses: vectors for vaccine development and gene therapy. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2005; 292: 165–200. DOI: 10.1007/3-540-27485-5_8.
16. Finke S., Mueller-Waldeck R., Conzelmann K. K. Rabies virus matrix protein regulates the balance of virus transcription and replication. *J. Gen. Virol.* 2003; 84: 1613–1621. DOI: 10.1099/vir.0.19128-0. PMID: 12771432.
17. Mebatsion T. Extensive attenuation of rabies virus by simultaneously modifying the dynein light chain binding site in the P protein and replacing Arg333 in the G protein. *J. Virol.* 2001; 75 (23): 11496–11502. DOI: 10.1128/JVI.75.23.11496-11502.2001.
18. Morimoto K., Shoji Y., Inoue S. Characterization of P gene-deficient rabies virus: propagation, pathogenicity and antigenicity. *Virus. Res.* 2005; 111 (1): 61–67. DOI: 10.1016/j.virusres.2005.03.011.
19. Wang Z. W., Sarmiento L., Wang Y., Li X. Q., Dhirga V., Tsegai T., et al. Attenuated rabies virus activates, while pathogenic rabies virus evades, the host innate immune responses in the central nervous system. *J. Virol.* 2005; 79 (19): 12554–12565. DOI: 10.1128/JVI.79.19.12554-12565.2005.
20. Walker P. J., Dietzgen R. G., Joubert D. A., Blasdel K. R. Rhabdovirus accessory genes. *Virus. Res.* 2011; 162 (1–2): 110–125. DOI: 10.1016/j.virusres.2011.09.004.
21. Faber M., Papaneri A., Bette M., Weihe E., Dietzschold B., Schnell M. J. A single amino acid change in rabies virus glycoprotein increases virus spread and enhances virus pathogenicity. *J. Virol.* 2005; 79 (22): 14141–14148. DOI: 10.1128/JVI.79.22.14141-14148.2005.
22. Etessami R., Conzelmann K. K., Fadai-Ghotbi B., Natelson B., Tsiang H., Ceccaldi P. E. Spread and pathogenic characteristics of a G-deficient rabies

virus recombinant: an *in vitro* and *in vivo* study. *J. Gen. Virol.* 2000; 81: 2147–2153. DOI: 10.1099/0022-1317-81-9-2147.

23. Yan X., Prosnjak M., Curtis M. T., Weiss M. L., Faber M., Dietzschold B., Fu Z. F. Silver-haired bat rabies virus variant does not induce apoptosis in the brain of experimentally infected mice. *J. Neurovirol.* 2001; 7 (6): 518–527. DOI: 10.1080/135502801753248105.

24. Zhang G., Wang H., Mahmood F., Fu Z. F. Rabies virus glycoprotein is an important determinant for the induction of innate immune responses and the pathogenic mechanisms. *Vet. Microbiol.* 2013; 162 (2–4): 601–613. DOI: 10.1016/j.vetmic.2012.11.031.

25. Tao L., Ge J., Wang X., Wen Z., Zhai H., Hua T., et al. Generation of a recombinant rabies Flury LEP virus carrying an additional G gene creates an improved seed virus for inactivated vaccine production. *Virol. J.* 2011; 8:454. DOI: 10.1186/1743-422X-8-454.

26. Tan Y., Liang H., Chen A., Guo X. Coexpression of double or triple copies of the rabies virus glycoprotein gene using a 'self-cleaving' 2A peptide-based replication-defective human adenovirus serotype 5 vector. *Biologicals.* 2010; 38 (5): 586–593. DOI: 10.1016/j.biologicals.2010.06.001.

27. Ito Y., Ito N., Saito S., Masatani T., Nakagawa K., Atoji Y., Sugiyama M. Amino acid substitutions at positions 242, 255 and 268 in rabies virus glycoprotein affect spread of viral infection. *Microbiol. Immunol.* 2010; 54 (2): 89–97. DOI: 10.1111/j.1348-0421.2009.00192.x.

28. Zandi F., Khalaj V., Goshadrou F., Meyfour A., Gholami A., Enayati S., et al. Rabies virus matrix protein targets host actin cytoskeleton: a protein-protein interaction analysis. *Pathog. Dis.* 2021; 79 (1):ftaa075. DOI: 10.1093/femspd/ftaa075.

29. Mebatsion T., König M., Conzelmann K. K. Budding of rabies virus particles in the absence of the spike glycoprotein. *Cell.* 1996; 84 (6): 941–951. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81072-7.

30. Wirblich C., Tan G. S., Papaneri A., Godlewski P. J., Orenstein J. M., Harty R. N., Schnell M. J. PPEY motif within the rabies virus (RV) matrix protein is essential for efficient virion release and RV pathogenicity. *J. Virol.* 2008; 82 (19): 9730–9738. DOI: 10.1128/JVI.00889-08.

31. Schnell M. J., McGettigan J. P., Wirblich C., Papaneri A. The cell biology of rabies virus: using stealth to reach the brain. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8 (1): 51–61. DOI: 10.1038/nrmicro2260.

32. Schnell M. J., Tan G. S., Dietzschold B. The application of reverse genetics technology in the study of rabies virus (RV) pathogenesis and for

the development of novel RV vaccines. *J. Neurovirol.* 2005; 11 (1): 76–81. DOI: 10.1080/13550280590900436.

33. Jacob Y., Badrane H., Ceccaldi P. E., Tordo N. Cytoplasmic dynein LC8 interacts with lyssavirus phosphoprotein. *J. Virol.* 2000; 74 (21): 10217–10222. DOI: 10.1128/jvi.74.21.10217-10222.2000.

34. Ceccaldi P. E., Fayet J., Conzelmann K. K., Tsiang H. Infection characteristics of rabies virus variants with deletion or insertion in the pseudogene sequence. *J. Neurovirol.* 1998; 4 (1): 115–119. DOI: 10.3109/13550289809113489.

35. Inoue K., Shoji Y., Kurane I., Iijima T., Sakai T., Morimoto K. An improved method for recovering rabies virus from cloned cDNA. *J. Virol. Methods.* 2003; 107 (2): 229–236. DOI: 10.1016/s0166-0934(02)00249-5.

36. Le Mercier P., Jacob Y., Tanner K., Tordo N. A novel expression cassette of lyssavirus shows that the distantly related Mokola virus can rescue a defective rabies virus genome. *J. Virol.* 2002; 76 (4): 2024–2027. DOI: 10.1128/jvi.76.4.2024-2027.2002.

37. Buchholz U. J., Finke S., Conzelmann K. K. Generation of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) from cDNA: BRSV NS2 is not essential for virus replication in tissue culture, and the human RSV leader region acts as a functional BRSV genome promoter. *J. Virol.* 1999; 73 (1): 251–259. DOI: 10.1128/JVI.73.1.251-259.1999.

38. Wenqiang J., Yin X., Lan X., Li X., Liu J. Development of a reverse genetics system for the aG strain of rabies virus in China. *Arch. Virol.* 2014; 159 (5): 1033–1038. DOI: 10.1007/s00705-013-1919-9.

39. Wall N. R., Wickersham I. R., Cetin A., De La Parra M., Callaway E. M. Monosynaptic circuit tracing *in vivo* through Cre-dependent targeting and complementation of modified rabies virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107 (50): 21848–21853. DOI: 10.1073/pnas.1011756107.

40. Wickersham I. R., Finke S., Conzelmann K. K., Callaway E. M. Retrograde neuronal tracing with a deletion-mutant rabies virus. *Nat. Methods.* 2007; 4 (1): 47–49. DOI: 10.1038/nmeth999.

41. Wickersham I. R., Sullivan H. A., Seung H. S. Production of glycoprotein-deleted rabies viruses for monosynaptic tracing and high-level gene expression in neurons. *Nat. Protoc.* 2010; 5 (3): 595–606. DOI: 10.1038/nprot.2009.248.

Поступила в редакцию / Received 03.11.2022

Поступила после рецензирования / Revised 15.11.2022

Принята к публикации / Accepted 09.12.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Доронин Максим Игоревич, кандидат биологических наук, заведующий сектором лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4682-6559>, e-mail: doronin@arriah.ru.

Мазлум Али, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5982-8393>, e-mail: mazlum@arriah.ru.

Михалишин Дмитрий Валерьевич, доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, e-mail: mihalishin_dv@arriah.ru.

Митрофанова Мария Николаевна, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0126-9653>, e-mail: mitrofanova@arriah.ru.

Сухарьков Андрей Юрьевич, кандидат биологических наук, заведующий референтной лабораторией по бешенству и BSE ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5326-2440>, e-mail: suharkov@arriah.ru.

Киселева Валерия Владимировна, ведущий биолог лаборатории по бешенству и BSE ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7114-6267>, e-mail: kiseleva_vv@arriah.ru.

Спрыгин Александр Владимирович, доктор биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории болезней крупного рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5982-3675>, e-mail: sprygin@arriah.ru.

Maksim I. Doronin, Candidate of Science (Biology), Head of Sector, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4682-6559>, e-mail: doronin@arriah.ru.

Ali Mazloun, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5982-8393>, e-mail: mazlum@arriah.ru.

Dmitry V. Mihalishin, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1718-1955>, e-mail: mihalishin_dv@arriah.ru.

Maria N. Mitrofanova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0126-9653>, e-mail: mitrofanova@arriah.ru.

Andrey Yu. Sukharkov, Candidate of Science (Biology), Head of Reference Laboratory for Rabies and BSE, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5326-2440>, e-mail: suharkov@arriah.ru.

Valeriya V. Kiseleva, Leading Biologist, Reference Laboratory for Rabies and BSE, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7114-6267>, e-mail: kiseleva_vv@arriah.ru.

Alexander V. Sprygin, Doctor of Science (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Bovine Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5982-3675>, e-mail: sprygin@arriah.ru.



Биологическая, цитоморфологическая и кариологическая гетерогенность постоянных линий клеток, полученных из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.)

Б. Л. Манин, Е. А. Трофимова, В. Л. Гаврилова, О. С. Пузанкова

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

РЕЗЮМЕ

Основным преимуществом постоянных линий клеток по сравнению с первичными является возможность наработки стабильного материала, пригодного для продолжительного использования в научно-исследовательских и практических целях. Поэтому важное прикладное значение имеет получение новых перевиваемых культур клеток из разнообразных тканей животных. В статье отражены результаты изучения биологических, цитоморфологических и кариологических особенностей постоянных линий клеток, полученных из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.), подтверждена чувствительность данных культур к различным вирусам животных, а также описан процесс получения новой диплоидной культуры клеток из селезенки свиньи (SSs – *Splen Sus scrofa*). При анализе полученных данных пришли к выводу, что полноценной иммортализации подвергаются эпителиальные клетки, полученные из почек свиньи после трипсинизации. Все постоянные линии клеток свиного происхождения имеют схожую морфологию с преобладанием эпителиоподобных форм. Некоторые из них – СПЭВ, А₄С₂, RSK – имеют тенденцию переживания сферической формы в суспензии. Такие клеточные линии, как ПСКК-30 и ППЭС, формируют частичный полислой либо для них характерно значительное уплотнение монослоя с образованием псевдосинцития. Только одна псевдодиплоидная клеточная культура СПЭВ имеет тенденцию к росту в суспензии, она также растет во вращающихся культуральных флаконах. Кариологические трансформации у разных культур стабилизировались на определенном уровне. Спонтанное увеличение количества хромосом в основной популяции постоянных линий клеток в сторону триплоидии привело к стабилизации культуральных свойств и увеличению пролиферации. Наивысший модальный класс – 64 хромосомы – имеет культура ПСКК-30. Околодиплоидные культуры (А₄С₂, RSK) характеризуются стабильными ростовыми параметрами и показывают сходство с культурой СПЭВ в отношении формирования переживающих сферических клеток в среде, качества монослоя и морфологии клеток. Наиболее пластичной клеточной линией оказалась РК-15, которая в разных условиях культивирования имеет отличительный кариотип при сохранении остальных культуральных свойств. В условиях лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ» в результате длительного инкубирования, субкультивирования (свыше 80 пассажей) и отбора была получена новая постоянная диплоидная культура клеток SSs, которая при проведении дальнейших пассажей может остаться диплоидной или спонтанно стать гетероплоидной – иммортализованной. Велика вероятность того, что впоследствии гиперплоидность клеток спровоцирует увеличение теломеразной активности, что, в свою очередь, стабилизирует иммортализацию и приведет к увеличению пролиферативной активности. До настоящего времени жизнеспособность клеток поддерживается путем регулярных пересевов (коэффициент пересева – 1:2–1:3), осуществляемых 1–2 раза в неделю.

Ключевые слова: постоянная линия клеток, перевиваемая линия клеток, гибридома, диплоидность, гетероплоидность, модальный класс клеток, пролиферативная активность

Благодарность: Исследование проведено за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках научно-исследовательских работ по теме «Ветеринарное благополучие».

Для цитирования: Манин Б. Л., Трофимова Е. А., Гаврилова В. Л., Пузанкова О. С. Биологическая, цитоморфологическая и кариологическая гетерогенность постоянных линий клеток, полученных из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.). *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 13–22. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-13-22.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Трофимова Елена Александровна, заведующий сектором отдела культур клеток, ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: trofimova_ea@arriah.ru.

Biological, cytomorphological and karyological heterogeneity of transformed cell lines derived from domestic pig (*Sus scrofa* L.) organs

B. L. Manin, E. A. Trofimova, V. L. Gavrilova, O. S. Puzankova

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

SUMMARY

The main advantage of transformed cell lines as compared to primary ones is that they allow generation of the stable material suitable for long-term research and practical use. Therefore, development of new continuous cell cultures from various animal tissues is of great practical importance. Results of examination of transformed cell lines derived from organs of domestic pigs (*Sus scrofa* L.) for their biological, cytomorphological and karyological features are described in the

paper. The said cell cultures are confirmed to be susceptible to various animal viruses. Also, a procedure for preparation of new diploid cell culture from porcine spleen (SSs – *Spleen Sus scrofa*) is described. Based on the obtained data analysis it was concluded that the epithelial cells derived from trypsinized porcine spleens could be successfully immortalized. All transformed cell lines of porcine origin have similar morphology with predominated epithelium-like forms. Some of them – SPEV, A₄C₂, RSK – tend to adopt a spherical shape in suspension. Such cell lines as PSGK-30 and PPES cell lines form partial multilayer or they are characterized by significant monolayer compaction with pseudosyncytium formation. Only pseudodiploid cell culture (SPEV cell culture) tends to grow in suspension, it also grows in rotating culture flasks. Karyological transformations in different cell cultures stabilized at certain level. Spontaneous increase in chromosome numbers in the main population of transformed cell lines towards triploidy resulted in stabilization of culture properties and increase in proliferation. PSGK-30 cell culture has the highest modal class – 64 chromosomes. Near-diploid cultures (A₄C₂, RSK) demonstrate stable growth properties and are similar to SPEV cell culture in adopting spherical cell forms in medium, monolayer character and cell morphology. PK-15 cell culture having a distinct karyotype under different cultivation conditions while retaining other culture properties is found to be the most adaptive. A new transformed diploid SSs cell culture is developed by long-term incubation, subcultivation (more than 80 passages) and selection at the FGBI “ARRIAH” laboratory; it can remain diploid or may spontaneously become heteroploid-immortalized during further passaging. The cell hyperploidy is very likely to enhance telomerase activity, which in turn stabilizes immortalization and results in proliferative activity increase. The cell viability has been maintained so far by regular reseeds (split ratio – 1:2–1:3) performed 1–2 times a week.

Keywords: transformed cell line, continuous cell line, hybridoma, diploidy, heteroploidy, modal class of cells, proliferative activity

Acknowledgements: This work was funded by the FGBI “ARRIAH” within the scope of research activities “Veterinary Welfare”.

For citation: Manin B. L., Trofimova E. A., Gavrilova V. L., Puzankova O. S. Biological, cytomorphological and karyological heterogeneity of transformed cell lines derived from domestic pig (*Sus scrofa* L.) organs. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 13–22. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-13-22.

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

For correspondence: Elena A. Trofimova, Head of Sector, Cell Cultivation Unit, FGBI “ARRIAH”, 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: trofimova_ea@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В ветеринарной вирусологии широко используются постоянные линии клеток (ПЛК) [1], в том числе полученные из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.). Клеточные линии с интенсивной пролиферацией в основном получены из почек свиньи [2–9]. Попытки получить хорошо размножающиеся на носителе культуры клеток из щитовидной железы [10, 11], тестикул [11, 12], кишечника [10], селезенки [13], синовиальной мембраны [14] и других органов свиньи, а также постоянные линии клеток макрофагов/моноцитов [15–23] не приводили к удовлетворительным результатам, так как данные ПЛК имели низкий пролиферативный потенциал при кратности посева 1:2–1:3. Следовательно, получение ПЛК с высокой пролиферативной активностью и прикладной значимостью является актуальной задачей.

При проведении кариологических исследований ориентировались на нормальный кариотип домашней свиньи, хорошо изученный в ветеринарии [24, 25]. В отличие от молекулярно-генетического анализа [26] кариологический метод позволяет определять качественные и количественные изменения в кариотипах основных популяций свиней ПЛК и сравнивать их биологические и культуральные свойства [27, 28].

Преимуществом перевиваемых культур клеток является их однородность и относительная стабильность, в то время как чувствительность первичных культур клеток к различным вирусам зависит от индивидуальных особенностей организма каждого отдельно взятого животного. Поэтому важной задачей является получение новых перевиваемых культур клеток из разнообразных тканей животных. Одной из таких тканей является селезенка свиней (*Splen Sus scrofa* – SSs), получение диплоидных и перевиваемых культур клеток из которой имеет большое практическое значение.

В результате длительного инкубирования, субкультивирования и тщательного отбора была получена но-

вая перевиваемая культура клеток селезенки свиней, которая прошла более 80 пассажей в течение 2 лет. В настоящее время жизнеспособность диплоидных клеток поддерживается путем регулярных пересевов (коэффициент пересева – 1:2–1:3), осуществляемых 1–2 раза в неделю.

Целью исследования было проведение биологических, цитоморфологических и кариологических исследований постоянных линий клеток, полученных из органов домашней свиньи (*Sus scrofa* L.), а также описание процесса получения новой диплоидной культуры клеток из селезенки свиней (SSs).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Фенотипирование клеточных линий проводилось с помощью фазово-контрастного микроскопа Olympus CKX41 (Япония) и люминесцентного микроскопа МЛ-2Б (Россия).

Для идентификации клеточных культур использовали кариологический метод получения метафазных пластинок по методике P. S. Moorhead et al. [24, 28, 29].

Культивирование клеток проводили на классических средах: MEM, DMEM, DMEM/F-12 с добавлением 10% сыворотки крупного рогатого скота.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В российской ветеринарной практике используются следующие линии и сублинии клеток свиного происхождения, полученные из почек – IB-RS-2, СПЭВ, A₄C₂, A₄C₂/9к, A₄C, PK-15, SK-6, ППЭС, ППК, ПСК-30, RSK, КСТ [1, 2, 4, 5, 9, 25, 30–33], тестикул – ST [11, 12], селезенки – SSs [13].

В коллекции клеток ФГБУ «ВНИИЗЖ» представлены 9 видов постоянных линий клеток свиного происхождения (табл.).

Благодаря исследованиям изоферментных спектров лактатдегидрогеназы удалось идентифицировать пред-

Таблица
Основные показатели (характеристики) ПЛК свиного происхождения

Table
Main characteristics of transformed cell lines of porcine origin

№ п/п	Постоянные линии клеток	Кратность рассева	Кариология, модальный класс	Морфология клеток монослоя
1	IB-RS-2 (почка поросенка)	1:3; 1:4	36	Полигональные, эпителиоподобные
2	СПЭВ (почка поросенка)	1:4; 1:6	38	Полигональные, эпителиоподобные, сферические
3	A ₄ C ₂ (гибрид СПЭВ со спленоцитами свиньи)	1:3; 1:4	39	Полигональные, эпителиоподобные, сферические
4	RSK (кожа кролика)	1:4; 1:6	40	Полигональные, эпителиоподобные, сферические
5	ППЭС (почка поросенка)	1:4; 1:6	51	Полигональные, эпителиоподобные
6	PK-15 (почка поросенка)	1:4; 1:6	53	Полигональные, эпителиоподобные
7	ПСГК-30 (почка сибирского горного козерога)	1:4; 1:18	64	Полигональные, эпителиоподобные
8	СТ (тестикулы поросенка)	1:2	38	Полигональные, эпителиоподобные
9	SSs (селезенка поросенка)	1:2	38	Полигональные, эпителиоподобные

ставленные в музей ФГБУ «ВНИИЗЖ» клеточные линии RSK (кожа кролика) и ПСГК-30 (почка сибирского горного козерога) как свиные. В дальнейшем при изучении кариотипа, морфологии и культуральных свойств данных клеточных линий информация об их видовой принадлежности подтвердилась.

Ориентиром при подтверждении видового происхождения клеточной культуры служили маркерные

метацентрические хромосомы среднего размера, у которых при рутинном приготовлении центромеры не прокрашиваются (рис. 1). Соотношение количества метацентрических хромосом к акроцентрическим у большинства свиных культур составляет около 2,2 (±5%): у первичной культуры клеток почки поросенка 26 метацентриков и 12 акроцентриков.

Описание ПЛК IB-RS-2. Клеточная линия IB-RS-2 – одна из самых «старых», полученных М. Р. de Castro в 1962 г. в Сан-Пауло (Бразилия) из почек свиньи.

Монослой состоит из полигональных эпителиоподобных клеток. Переросший монослой образует синцитий (рис. 2). Модальный класс IB-RS-2 в 36 хромосом, 49% популяций (рис. 3), – самый низкий из всех известных свиных клеточных культур (табл.). Представленная ПЛК чувствительна к вирусам ящура, энцефаломиелита свиней, классической (КЧС) и африканской (АЧС) чумы свиней, везикулярной болезни свиней (ВБС), везикулярной экзантемы свиней (ВЭС) и другим.

Из культуральных свойств ПЛК можно отметить умеренный пролиферативный потенциал: кратность рассева 1:3; 1:4. При формировании монослоя в стационарной фазе формируется псевдосинцитий, при трипсинизации (пересев культуры) могут образовываться агрегаты, которые, в свою очередь, при адгезии образуют колонии. Разрушение монослоя в стационарной фазе роста происходит по типу дегенерации.

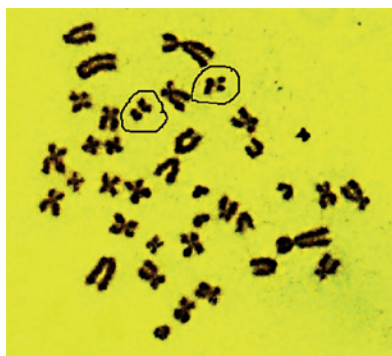


Рис. 1. Диплоидный разброс хромосом свиньи с двумя маркерами и соотношением 26 метацентрических и 12 акроцентрических хромосом

Fig. 1. Porcine diploid chromosome number with two markers and 26 metacentric and 12 acrocentric chromosome ratio

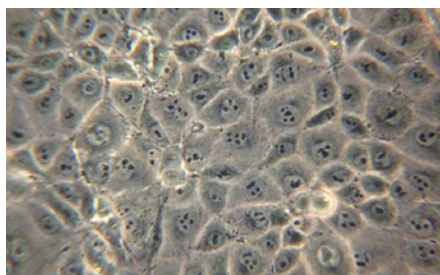


Рис. 2. Морфология клеточной линии IB-RS-2, объектив 40х

Fig. 2. IB-RS-2 cell line morphology, 40x lens

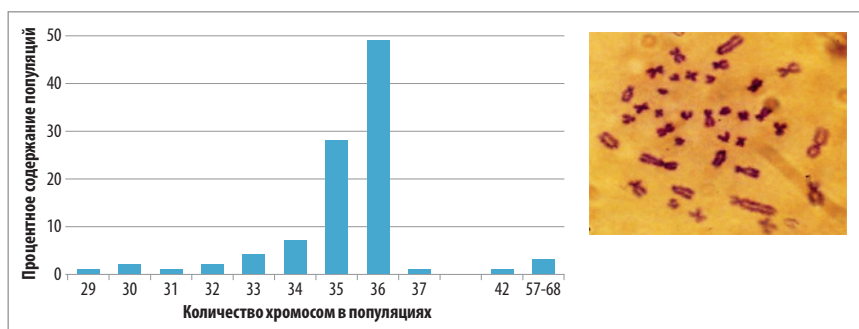


Рис. 3. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии IB-RS-2, 36 хромосом (26 метацентрических и 10 акроцентрических)

Fig. 3. Karyogram and metaphase plate of IB-RS-2 cell line, 36 chromosomes (26 metacentric and 10 acrocentric chromosomes)

Описание ПЛК СПЭВ. Клеточная линия СПЭВ получена в 1959 г. К. С. Куликовой и др. в Московском научно-исследовательском институте вирусных препаратов. Клетки имеют полигональную и эпителиоподобную форму, с округлыми ядрами и 2–3 ядрышками (рис. 4). Модальный класс – 38 хромосом, 52%-е содержание популяций (рис. 5). Кратность распада – 1:4–1:6. Это единственная клеточная линия свиного происхождения, которая адаптируется к росту в суспензии и хорошо культивируется в роллерных условиях. Клеточная линия чувствительна к вирусам ящура, чумы крупного рогатого скота, КЧС, АЧС, трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГЭС), болезни Ауески (БА) и другим возбудителям болезней млекопитающих. В отличие от IB-RS-2, СПЭВ в стационарной стадии роста не образует псевдосинцитий, часть клеток «уходят» в суспензию и могут длительное время существовать во взвешенном состоянии и делиться, если не израсходованы лимитирующие факторы пролиферации.

Описание ПЛК A_4C_2 . Одной из оригинальных ПЛК является гибридная линия A_4C_2 , полученная в ВИЭВ (г. Москва) в 1995 г. Л. П. Дьяконовым и др. в результате сокультивирования спленоцитов свиньи с линией СПЭВ. Клетки монослоя, так же как и СПЭВ, имеют полигональную и эпителиоподобную форму, с округлыми ядрами и 2–5 ядрышками (рис. 6). Модальный класс – 39 хромосом (рис. 7). При роллерном культивировании продуктивность ниже, чем у исходной культуры СПЭВ, но сохраняется аналогичная тенденция отслоения клеток от монослоя. В стационарной фазе роста происходит агрегация клеток над монослоем. Клеточная линия A_4C_2 , так же как и СПЭВ, чувствительна к вирусам ящура, чумы крупного рогатого скота, КЧС, АЧС, ТГЭС, БА и другим возбудителям болезней млекопитающих.

По морфологическим и культуральным признакам в гибридной культуре A_4C_2 преобладают клетки линии СПЭВ. В кариотипе произошла трансформация, модальный класс увеличился на одну хромосому. Вероятно, длительное сокультивирование со спленоцитами привело к снижению пролиферации и трансформации кариотипа. В то же время чувствительность к вирусам не изменилась. Так как интенсивность пролиферации ниже, чем у СПЭВ, кратность распада равна 1:3; 1:4.

Описание ПЛК RSK. При поступлении клеточных линий из других организаций в ФГБУ «ВНИИЗЖ» проводится процедура морфологической и кариологической идентификации полученного материала. Так, клеточная культура RSK (кожа кролика), поступившая из ВИЭВ (г. Москва), оказалась нечувствительной к дерматотропным вирусам оспы и нодулярного дерматита. При морфологическом и кариологическом обследовании выяснили, что она имеет значительное сходство со СПЭВ.

Монослой RSK состоит из эпителиоидных и округлых клеток (рис. 8). Модальный класс – 40 хромосом, 55% популяций (рис. 9). Морфология хромосом и некоторые маркеры (средний субметацентрик с непрокрашенной метацентрической перетяжкой) указывают на свиное происхождение данной ПЛК. Кратность распада составляет 1:4; 1:6. Клеточная линия также пригодна для роллерного культивирования. Она оказалась чувствительной к возбудителям ТГЭС, КЧС, инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота, ринопневмонии лошадей, ротавирусной инфекции свиней.

По нашему предположению, клеточная линия кожи кролика была контаминирована клетками СПЭВ, которые после длительного культивирования вытеснили клетки RSK. В то же время произошла трансформация кариотипа в сторону стабильной гиперплоидии.

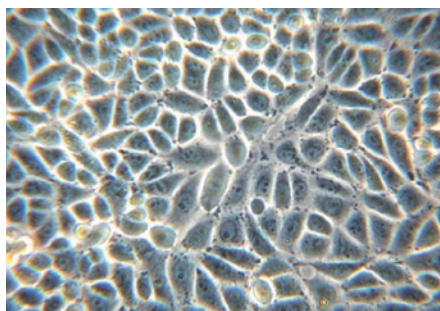


Рис. 4. Морфология клеточной линии СПЭВ, объектив 40х

Fig. 4. SPEV cell line morphology, 40 × lens

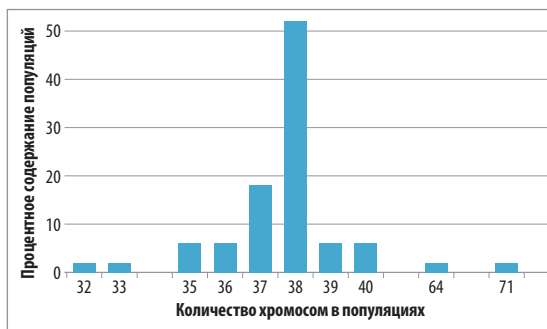


Рис. 5. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии СПЭВ, 38 хромосом

Fig. 5. Karyogram and metaphase plate of SPEV cell line, 38 chromosomes

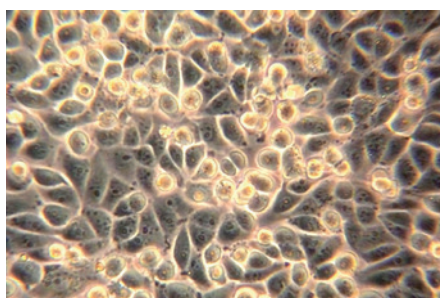


Рис. 6. Морфология клеточной линии A_4C_2 , объектив 40х

Fig. 6. A_4C_2 cell line morphology, 40 × lens

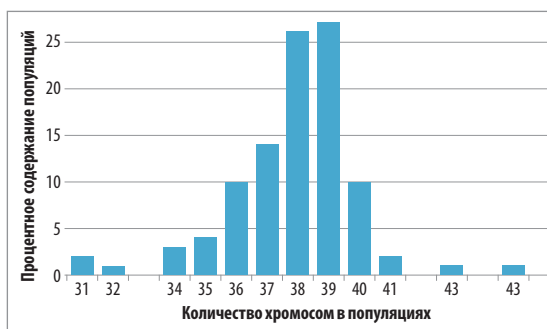


Рис. 7. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии A_4C_2 , 39 хромосом

Fig. 7. Karyogram and metaphase plate of A_4C_2 cell line, 39 chromosomes

Описание ПЛК ППЭС. Одной из перспективных и интенсивных ПЛК отечественного происхождения является ППЭС (перевиваемая культура клеток почки эмбриона свиньи), полученная во ВНИВИ (г. Казань) С. Х. Хаертыновым и Г. Н. Романовичем в 1975 г. Монослой состоит из полигональных эпителиоидных клеток и образовавшихся колоний полислоя (рис. 10). Модальный класс – 51 хромосома, 31%-е содержание популяций (рис. 11).

Данная клеточная линия отличается гипердипloidностью. Такая тенденция наблюдается и у других клеточных линий свиного происхождения. Увеличение в кариотипе количества хромосом не сказалось на интенсивности пролиферации, напротив, ПЛК ППЭС имеет кратность рассева 1:4; 1:6. В частности, она способна к росту во вращающихся (роллерных) сосудах, что гипердипloidным культурам не всегда свойственно. Также ППЭС отличается отсутствием явных микоплазменной и вирусной контаминаций, в связи с этим она способна к длительному непрерывному пассированию. Несмотря на хорошие культуральные и цитоморфологические свойства, на ней со слабой интенсивностью репродуцируются специфичные для свиней вирусы КЧС, ТГЭС, энтеровирус.

Из клеточной линии ППЭС были получены перевиваемые культуры клеток ППК и ППК-666 (казанская линия). Последние после длительного пассирования на разных средах и сыворотках стали более чувствительны к возбудителям болезней свиней, например к парвовирусу, но оказались хронически контаминированы микоплазмами и поэтому имеют ограниченный потенциал к непрерывному пассированию без санации «сильными» антибиотиками (до 10 пассажей). Перевиваемые линии ППК и ППК-666 гипердипloidные и имеют модальный класс 57 хромосом

в кариотипе. Они не способны к роллерному культивированию.

Описание ПЛК РК-15 (ФГБУ «ВНИИЗЖ»). Следующей клеточной линией с гипердипloidным содержанием хромосом является РК-15. Она была получена в Калифорнийском университете, Сан-Диего (США) в 1968 г. В ФГБУ «ВНИИЗЖ» поступила в 1986 г. из Института Фридриха Лёффлера (Германия).

Культура состоит из эпителиоподобных клеток размером 10–14 мкм (рис. 12). Модальный класс – 53 хромосомы (рис. 13). Интенсивность пролиферации соответствует кратности рассева 1:4 и 1:6. Данная ПЛК способна формировать полноценный монослой во вращающихся сосудах. Продуктивность ее через 3–4 сут достигает 300 млн клеток с роллерной бутылки (800 см²). В переросших монослоях РК-15 в культуральных сосудах наблюдается формирование многоядерных клеток (1–2%).

Клеточная линия чувствительна к вирусам АЧС, КЧС, БА, везикулярного стоматита свиней, Коксаки, коревой оспы, цирковирусу свиней, реовирусу серотипов 2, 3, аденовирусу серотипов 4, 5 и другим возбудителям болезней млекопитающих.

Описание ПЛК РК-15 (ATCC, American Type Culture Collection). Клеточные трофоварианты РК-15, полученные из Венгрии и ATCC, имеют модальный класс 60 хромосом (рис. 14). Морфология клеток и монослоя идентична предыдущей культуре (рис. 15). Продуктивность и интенсивность пролиферации также аналогична. Различие в кариотипе можно объяснить разными условиями культивирования в различных лабораториях. В европейских лабораториях преобладает культивирование на полностью синтетических средах, в ФГБУ «ВНИИЗЖ» часто используются гидролизаты белков.

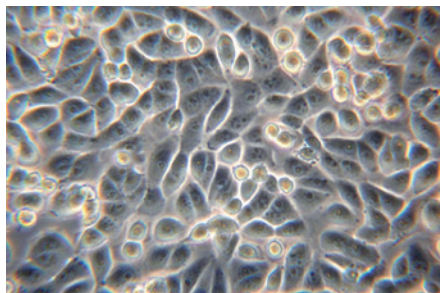


Рис. 8. Морфология клеточной линии RSK, объектив 40х

Fig. 8. RSK cell line morphology, 40x lens

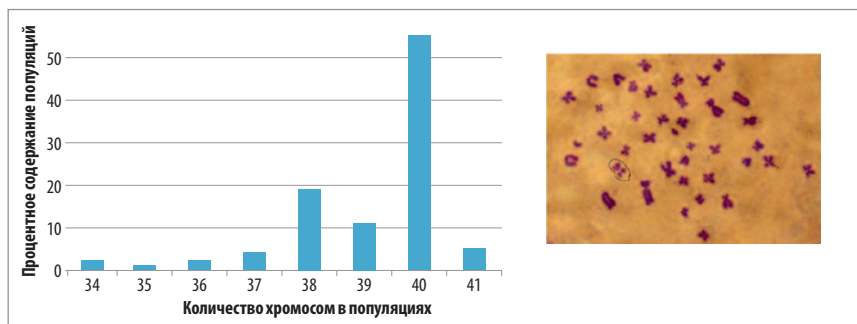


Рис. 9. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии RSK, 40 хромосом

Fig. 9. Karyogram and metaphase plate of RSK cell line, 40 chromosomes

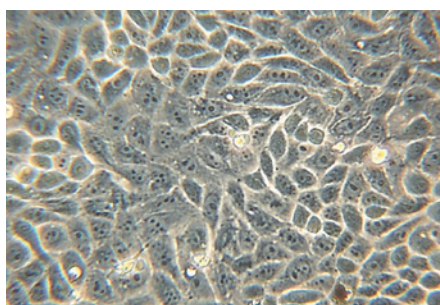


Рис. 10. Морфология клеточной линии ППЭС, объектив 40х

Fig. 10. PPES cell line morphology, 40x lens

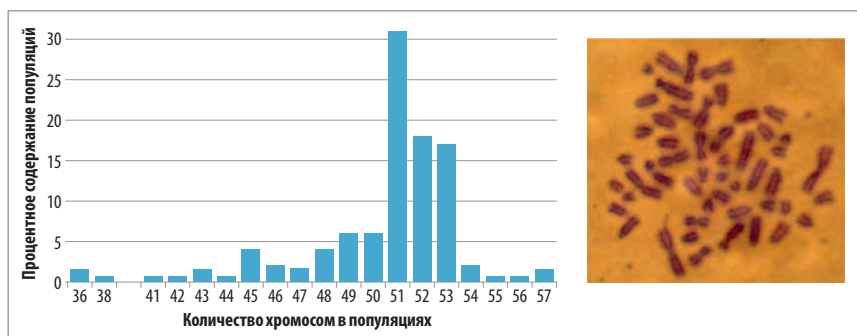


Рис. 11. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии ППЭС, 51 хромосома

Fig. 11. Karyogram and metaphase plate of PPES, cell line, 51 chromosomes

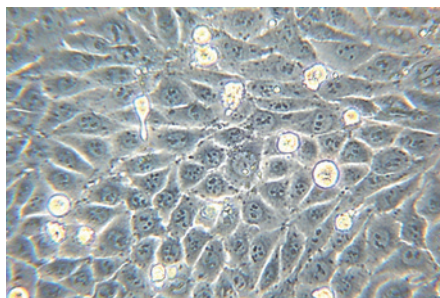


Рис. 12. Морфология клеточной линии РК-15 (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), объектив 40х

Fig. 12. PK-15 cell line (FGBI "ARRIAH") morphology, 40x lens

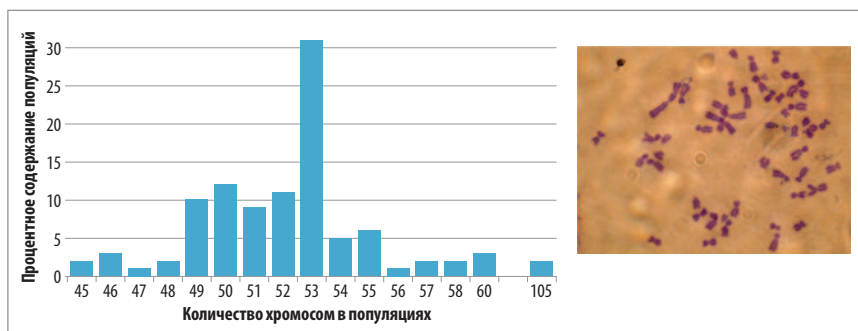


Рис. 13. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии РК-15 (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), 53 хромосомы

Fig. 13. Karyogram and metaphase plate of PK-15, cell line (FGBI "ARRIAH"), 53 chromosomes

Клеточная линия чувствительна к вирусам АЧС, КЧС, БА, везикулярного стоматита свиней, Коксаки, коревой оспы, цирковирусу свиней, реовирусу серотипов 2, 3, аденовирусу серотипов 4, 5 и другим возбудителям болезней млекопитающих.

Описание ПЛК ПСГК-30. Перевиваемая линия клеток ПСГК получена в 1976 г. И. Г. Кекух, Л. П. Кирюхиной, З. М. Лукьяновой в НИСХИ МСХ СССР. Существуют следующие трофоварианты и сублинии данных клеток: ПСГК, ПСГК-30, ПСГК-60, ПСГК-с60 и ПСГК-с85.

Рядом исследователей была выявлена межвидовая контаминация данной клеточной культуры клетками свиного происхождения (В. Г. Костюченко и др., 1985; Н. Ю. Смылова и др., 1996). В настоящее время постоянная клеточная линия ПСГК-30 является сильно трансформированной свинной культурой, которая сформировалась в результате контаминирования

первичной культуры клеток почки сибирского горного козорога более жизнеспособными ПЛК СПЭВ, ППК либо РК-15.

Клеточная линия ПСГК-30 – одна из самых активных свиных культур, обладающая высоким индексом пролиферации (до 3,0). Кратность посева может достигать 1:20. Высокий пролиферативный потенциал достигается оптимизацией питательной среды, в которую входит гидролизат лактальбумина в концентрации 0,1%. Монослой культуры состоит из эпителиоподобных клеток (рис. 16). Модальный класс кариотипа достигает 64 хромосом – самый высокий среди свиных культур (рис. 17). Монослой ПЛК в стационарной фазе роста достигает такой плотности, при которой клетки уплотняются с образованием полислоя эпителиоподобных клеток на отдельных участках слоя. При «пересевной» трипсинизации часто образуются конгло-

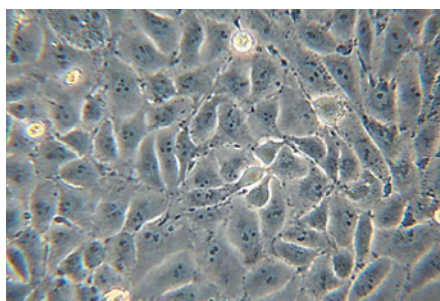


Рис. 14. Морфология клеточной линии РК-15 (АТСС), объектив 40х

Fig. 14. PK-15 cell line (ATCC) morphology, 40x lens

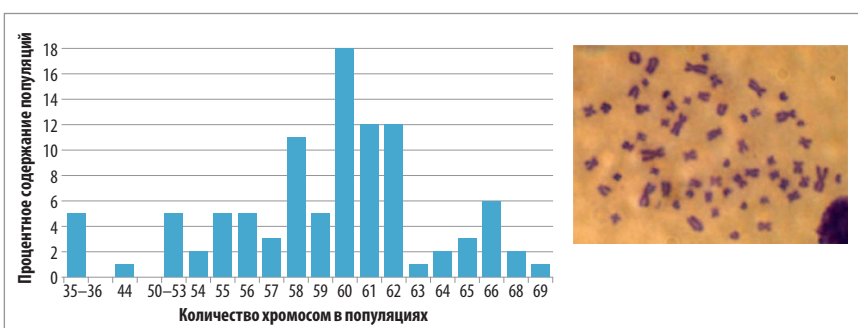


Рис. 15. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии РК-15 (АТСС), 60 хромосом

Fig. 15. Karyogram and metaphase plate of PK-15 cell line (ATCC), 60 chromosomes

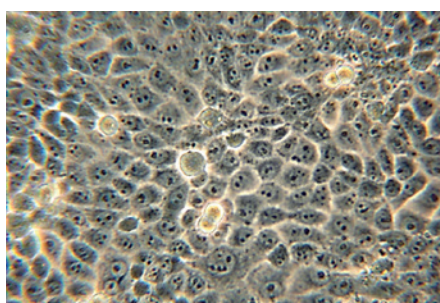


Рис. 16. Морфология клеточной линии ПСГК-30, объектив 40х

Fig. 16. PSGK-30 cell line morphology, 40x lens

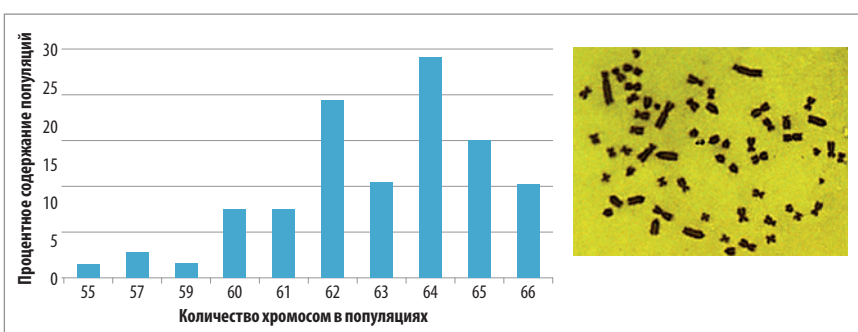


Рис. 17. Кариограмма и метафазная пластинка клеточной линии ПСГК-30, 64 хромосомы

Fig. 17. Karyogram and metaphase plate of PSGK-30 cell line, 64 chromosomes

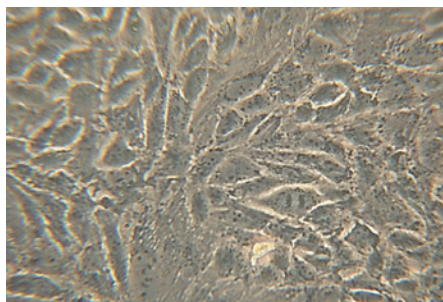


Рис. 18. Морфология клеточной линии ST, объектив 40х

Fig. 18. ST cell line morphology, 40x lens

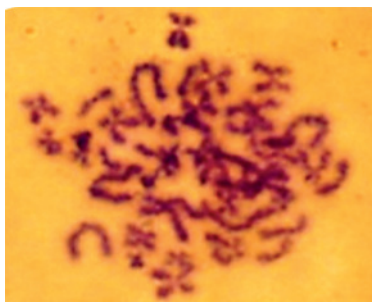


Рис. 19. Метафазная пластинка клеточной линии ST, ок. 38 хромосом

Fig. 19. Metaphase plate of ST cell line, about 38 chromosomes

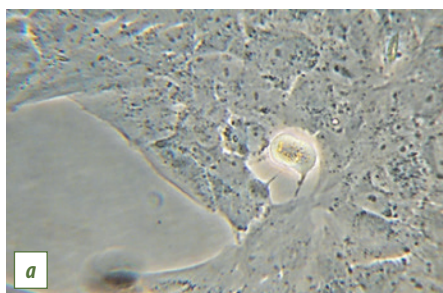


Рис. 20. Морфология клеточной линии SSs: а) 6-й пассаж; б) 74-й пассаж (объектив 40х)

Fig. 20. SSs cell line morphology: a) at 6th passage; b) at 74th passage (40x lens)

мераты клеток, которые при седиментации и адгезии формируют колонии роста. Продуктивность с клинско-го матраса не превышает 120 млн клеток. ПЛК ПСГК-30 является основным субстратом для культивирования матрового вируса ящура всех штаммов при производ-стве вакцин.

Описание ПЛК ST. Особую группу ПЛК образуют линии, полученные из других органов свиньи: тестикул и селезенки. Клеточная линия ST (тестикулы поросенка) отличается низкой пролиферативной активностью. При расसेве 1:2 формируется неконфлюэнтный моно-слой за 7–10 сут. Клеточный цикл растягивается на не-сколько суток. Монослой состоит из крупных эпителио-подобных и веретенообразных клеток. В стационарной фазе роста в монослое появляется внеклеточный ма-трикс (рис. 18).

Из-за слабой пролиферативной активности при приготовлении кариологических препаратов возни-кают трудности со сбором и локализацией делящихся клеток. Трудно даже в этой ситуации удается определить кариотип как диплоидный (рис. 19).

Клеточная культура ST имеет диплоидный кариотип около 38 хромосом. Но подсчитать модальный класс чи-сто технически невозможно из-за отсутствия достаточ-ного количества метафазных пластинок при стандарт-ном воспроизведении методики кариотипирования.

ПЛК ST чувствительна ко многим вирусам, поражаю-щим свиней (*Sus scrofa*), но ее не используют для приго-товления диагностикумов и специфических вакцинных препаратов, так как она обладает низкой пролифера-тивной активностью (1:2), монослой клеток формиру-ется в течение 1–1,5 недель. Продуктивность ПЛК ST не изучена, о чем указано в паспорте, оформленном на данную линию клеток.

Получение диплоидной ПЛК SSs. При проведении стандартных работ по получению первичных кле-

ток из органов животных в отделе культуры клеток ФГБУ «ВНИИЗЖ» была предпринята попытка субкуль-тивирования трипсинизированных клеток селезенки поросенка с использованием среды ПСП + DMEM/F-12 в соотношении 1:2–1:3 и 10% сыворотки крови круп-ного рогатого скота, обработанной лантаноидами. Дан-ной ПЛК было дано временное название SSs (*Splen Sus scrofa* – селезенка поросенка).

В первых пассажах субкультура имела смешанную клеточную популяцию с преобладанием эпителио-подобных клеток, которые формировали колонии, равномерно распределенные по всей культуральной поверхности матрасов, затем колонии объединялись в сплошной монослой клеток. После трипсиниза-ции клетки были крупными до 20 мкм, отличались полиморфизмом и неполной конфлюэнтцией моно-слоя (рис. 20a).

По мере пассирования диплоидных клеток селе-зенки свиней возрастала их пролиферативная актив-ность, культура становилась морфологически более однородной, состоящей из эпителиоподобных клеток полигональной формы с четкими, хорошо выражены-ми границами, с округлыми ядрами (с 1–3 ядрышками) и светлой, иногда вакуолизированной цитоплазмой.

Субкультивирование клеточной линии селезенки по-росенка имело нестандартную динамику. К 40-му пасса-жу (в сущности, к 40-му пересеву) время формирования монослоя составляло 10 сут. К этому пассажу размеры клеток уменьшились, плотность увеличилась, но ко-личество митозов осталось на прежнем уровне. По-сле пересева (клетки снимали с подложки раствором трипсин-версена) седиментация, адгезия и распласты-вание клеток проходили в течение 24–36 ч. Через 96 ч среда значительно закислялась, но монослой не фор-мировался. После смены среды формировался почти конфлюэнтный монослой.

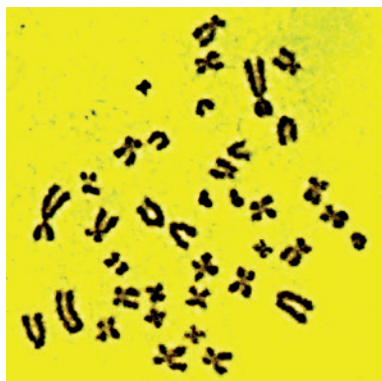


Рис. 21. Диплоидная метафазная пластинка ПЛК SSs, 74-й пассаж, 38 хромосом

Fig. 21. Diploid metaphase plate of continuous SSs cell line, 74th passage, 38 chromosomes

Постоянная клеточная линия SSs поддерживает репродукцию вирусов КЧС, АЧС, ТГЭС и репродуктивно-респираторного синдрома свиней.

Следующий этап работы заключался в том, чтобы интенсифицировать пролиферацию с помощью подбора питательных сред и условий культивирования, а также определить чувствительность клеток к другим вирусам животных. Культура SSs была адаптирована к минимальной среде MEM.

К 74-му пассажу клетки стали более однородны по морфологии с преобладанием эпителиоподобных. Размеры клеток в конфлюэнтном монослое достигали 15 мкм (рис. 20b). Интенсивность пролиферации оставалась низкой: кратность посева 1:2; 1:3 через 4–6 сут. Полученная ПЛК SSs была чувствительна к вирусам КЧС, АЧС, БА, ТГЭС и другим возбудителям болезней свиней. Из-за слабой пролиферативной активности клеточная линия SSs использовалась только для научно-исследовательских работ.

Кариологические исследования показали, что популяция ПЛК SSs состоит в основном из диплоидных клеток (рис. 21).

По нашему мнению, трансформации популяции ПЛК в сторону иммортализации подверглись клетки стромального происхождения, которые в состоянии *in vivo* не обладают интенсивной «сменной» пролиферацией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализируя цитоморфологические и биологические свойства ПЛК свиного происхождения, можно прийти к выводу, что полноценной иммортализации подвергаются эпителиальные клетки, полученные из почек свиньи при трипсинизации. Все линии клеток свиньи в статусе постоянных имеют схожую морфологию с преобладанием эпителиоподобных форм. Некоторые из них, такие как СПЭВ, A₄C₂, RSK, имеют тенденцию переживания сферической формы в суспензии. Такие ПЛК, как ПСГК-30 и ППЭС, формируют частичный полислой или для них характерно значительное уплотнение монослоя с образованием псевдосинцития. Только одна псевдодиплоидная клеточная культура СПЭВ имеет тенденцию к росту в суспензии, она также растет во вращающихся культуральных флаконах.

Кариологические трансформации у разных культур стабилизировались на определенном уровне. Увеличение у постоянных линий клеток (спонтанное) ко-

личества хромосом в основной популяции в сторону триплоидии привело к стабилизации культуральных свойств и увеличению пролиферации.

Околодиплоидные культуры (A₄C₂, RSK) также имеют стабильные ростовые параметры и по тенденции формировать переживающие сферические клетки в среде, качеству монослоя и морфологии клеток показывают сходство с культурой СПЭВ.

Особую группу представляют культуры, полученные из других органов свиньи: тестикул и селезенки (ST, SSs). По нашему предположению, эти ПЛК произошли из стромальных клеток и отличаются незначительной пролиферативной активностью и диплоидным составом клеточных популяций. В основном они представляют интерес для научно-исследовательских работ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Животная клетка в культуре (методы и применение в биотехнологии). Под ред. Л. П. Дьяконова; Рос. акад. с.-х. наук. 2-е изд. доп. М.: Спутник+; 2009. 652 с.
2. Белун О. В., Сокова В. А., Курносов А. Н. Клонирование перевиваемой линии клеток почки поросенка. *Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии: тезисы докладов научной конференции*. Покров: ВНИИВВиМ; 1978; 16–17.
3. Колбасова О. Л. Кариологическая и цитохимическая характеристика перевиваемых линий клеток перmissive и неpermissive (резистентных) к вирусу классической чумы свиней: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Покров; 2000. 21 с.
4. Филина А. Ю., Герасимов В. Н., Байбиков Т. З., Егорова А. И. Культивирование различных штаммов вируса классической чумы свиней в перевиваемых культурах клеток. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2007; 5: 278–284. eLIBRARY ID: 14454067.
5. Строганова И. Я., Трухоненко А. А. Использование в вирусологии культуры клеток: методические указания. Красноярск: Красноярский ГАУ; 2013. 48 с. Режим доступа: http://www.kgau.ru/sveden/2017/ipbivm/tu_360501_9.pdf.
6. Панкова Г. Е. Селекция клеточных популяций и морфологическая характеристика клонов из перевиваемых линий клеток почки поросенка ПП (PS) и РК-15. *Цитология*. 1976; 18 (8): 1036–1039.
7. Полянская Г. Г. Типы клеточных культур. Образование, основные характеристики и изменчивость клеточных линий. В кн.: *Методы культивирования клеток*. СПб.: Политехнический университет; 2008; 22–40.
8. Ruggli N., Summerfield A., Häni R. E. From pigs to cells: Virulence of classical swine fever virus is predicable in cell cultures. *3R-Info-Bulletin*. 2010; 44. Режим доступа: <https://www.forschung3r.ch/data/publications/Ruggli-Bul44.pdf>.
9. Kasza L., Shaddock J. A., Christofinis G. J. Establishment, viral susceptibility and biological characteristics of a swine kidney cell line SK-6. *Res. Vet. Sci*. 1972; 13 (1): 46–51. PMID: 4336054.
10. Гальбек Т. В. Культуры клеток щитовидной железы и кишечника свиньи и их использование в вирусологии и биотехнологии: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.; 1991. 25 с.
11. Дьяконов Л. П., Субаев Г. Х., Гальбек Т. В., Такташев Ш. С., Непоклонов Е. А., Федорова Е. С., Расулов О. Ш. Методические рекомендации по получению и культивированию клеток из щитовидной железы и других органов свиньи. М.; 1985. 19 с. Режим доступа: <https://meganorm.ru/Data2/1/4293737/4293737310.pdf>.
12. Жданова Н. А. Получение суспензионной перевиваемой линии клеток тестикул поросенка и оптимизация условий ее культивирования: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Покров; 2009. 25 с.
13. Макарян Э. А., Балаян О. Р., Диченский А. В., Абылкасимов Д. А., Дегтярев В. П., Федотов С. В. Способ получения препарата на основе стоволовых клеток, выделенных из ткани селезенки свиней, для профилактики и лечения инфекционных и незаразных болезней домашних и сельскохозяйственных животных. Патент № 2611205 Российской Федерации, МПК C12N 5/077 (2010.01), C12N 5/0797 (2010.01), A61P 19/02 (2006.01), A61P 31/00 (2006.01). ФГБОУ ВО «Тверская государственная сельскохозяйственная академия». № 2015148589. Заявл. 12.11.2015. Оpubl. 21.02.2017. Бюл. № 6. Режим доступа: https://patents.s3.yandex.net/RU2611205C1_20170221.pdf.
14. Колбасова О. Л., Юрков С. Г., Неверовская Н. С., Дмитренко В. В., Лыска В. М. Штамм диплоидных клеток синовиальной мембраны поросенка *Sus scrofa*, используемый для вирусологических исследований. Патент № 2506310 Российская Федерация, МПК C12N 5/077 (2010.01), G01N 33/569 (2006.01). ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микро-

биологии Россельхозакадемии. № 012131176/10. Заявл. 23.07.2012. Опубликовано. 10.02.2014. Бюл. № 4. Режим доступа: https://patents.s3.yandex.net/RU2506310C1_20140210.pdf.

15. Portugal R., Goatley L. C., Husmann R., Zuckermann F. A., Dixon L. K. A porcine macrophage cell line that supports high levels of replication of OIRT88/3, an attenuated strain of African swine fever virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9 (1): 1245–1253. DOI: 10.1080/22221751.2020.1772675.

16. Weingartl H. M., Sabara M., Pasick J., van Moorlehem E., Babiuk L. Continuous porcine cell lines developed from alveolar macrophages: partial characterization and virus susceptibility. *J. Virol. Methods.* 2002; 104 (2): 203–216. DOI: 10.1016/S0166-0934(02)00085-X.

17. Lee Y. J., Park C. K., Nam E., Kim S. H., Lee O. S., Lee du S., Lee C. Generation of a porcine alveolar macrophage cell line for the growth of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Virol. Methods.* 2010; 163 (2): 410–415. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.11.003.

18. Chitko-McKown C. G., Chapes S. K., Miller L. C., Riggs P. K., Ortega M. T., Green B. T., McKown R. D. Development and characterization of two porcine monocyte-derived macrophage cell lines. *Results Immunol.* 2013; 3: 26–32. DOI: 10.1016/j.rinim.2013.03.001.

19. Kadai K., Tsukise A., Shiba H., Ikeda K., Seki T., Ariga T. Establishment of a swine monocyte cell line. *New Microbiol.* 2001; 24 (3): 243–247. PMID: 11497081.

20. Takenouchi T., Kitani H., Suzuki S., Nakai M., Fuchimoto D. I., Tsukimoto M., et al. Immortalization and characterization of porcine macrophages that had been transduced with lentiviral vectors encoding the SV40 large T antigen and porcine telomerase reverse transcriptase. *Front. Vet. Sci.* 2017; 4:132. DOI: 10.3389/fvets.2017.00132.

21. Takenouchi T., Masujin K., Miyazaki A., Suzuki S., Takagi M., Kokuho T., Uenishi H. Isolation and immortalization of macrophages derived from fetal porcine small intestine and their susceptibility to porcine viral pathogen infections. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9:919077. DOI: 10.3389/fvets.2022.919077.

22. Talbot N. C., Paape M., Worku M. Selective expansion and continuous culture of macrophages from adult pig blood. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1998; 64 (2): 173–190. DOI: 10.1016/S0165-2427(98)00128-7.

23. Wardley R. C., Lawman M. J., Hamilton F. The establishment of continuous macrophage cell lines from peripheal blood monocytes. *Immunology.* 1980; 39 (1): 67–73. PMID: 6769783.

24. Графодатский А. С., Раджабли С. И. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих: атлас. Новосибирск: Наука; 1988. 127 с.

25. Дьяконов Л. П., Гальбек Т. В., Акиншина Г. Т., Абдрахманов И. К., Самуйленко А. Я., Дагданова А. В. и др. Специализированная коллекция перевиваемых соматических клеточных культур сельскохозяйственных и промысловых животных РКК(П) (СХЖ РАСХН): каталог. 2-е изд. доп. М.: ВИЭВ; 2006. 115 с.

26. Кулешов К. В. Определение видовых принадлежности клеточных культур методами молекулярно-генетического анализа: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Щелково; 2009. 24 с.

27. Фрешни Р. Я. Культура животных клеток. Практическое руководство. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний; 2011. 691 с.

28. Moorhead P. S., Nowell P. C., Mellman W. J., Battips D. M., Hungerford D. A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* 1960; 20: 613–616. DOI: 10.1016/0014-4827(60)90138-5.

29. Мамаева С. Е. Хромосомный анализ культивируемых клеток. В кн.: *Методы культивирования клеток: сборник научных трудов*. Ред. Г. П. Пинаев. Л.: Наука; 1988; 78–98.

30. Прудникова Е. Ю., Балышева В. И., Гальбек Т. В., Балышев В. М. Перевиваемая гибридная сублиния клеток A₂C₁/9к *Sus scrofa*, используемая для вирусологических исследований вируса африканской чумы свиней. Патент № 2545720 Российская Федерация, МПК C12N 5/073 (2010.01), C12N 7/00 (2006.01). ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной вирусологии и микробиологии Россельхозакадемии. № 2013153452/10. Заявл. 03.12.2013. Опубликовано. 04.10.2015. Бюл. № 10. Режим доступа: https://patents.s3.yandex.net/RU2545720C1_20150410.pdf.

31. Дьяконов Л. П., Майджи Е. В., Герасимов В. Н., Гальбек Т. В., Дудар Л. Н., Солдатова Н. В., Федорова Е. Е., Егорова А. И. Штамм внутривидовых гибридных клеток *Suis domestica*, используемый для выделения и культивирования вируса классической чумы свиней. Патент № 2082758 Российская Федерация, МПК C12N 5/06. № 94026140/13. Заявл. 14.07.1994. Опубликовано. 27.06.1996. Режим доступа: https://patents.s3.yandex.net/RU94026140A1_19960710.pdf.

32. The European Collection of Authenticated Cell Cultures. Cell Lines and Hybridomas. Режим доступа: <https://www.culturecollections.org.uk/products/celllines/index.aspx> (дата обращения: 12.08.2022).

33. Pan I. C., Shimizu M., Hess W. R. Replication of African swine fever virus in cell cultures. *Am. J. Vet. Res.* 1980; 41 (9): 1357–1367. PMID: 7004279.

REFERENCES

1. Animal cell in culture (methods and implementation in biotechnology). Ed. by L. P. Dyakonov; Russian Academy of Agricultural Sciences. 2nd ed., enlarged. Moscow: Sputnik+; 2009. 652 p. (in Russ.)

2. Belun O. V., Sokova V. A., Kurnosov A. N. Klonirovanie pervivamoim linii kletok pochki porosenka = Cloning of continuous porcine cell line. *Voprosy veterinarnoi virusologii, mikrobiologii i epizootologii: teziy dokladov nauchnoi konferentsii = Veterinary virology, microbiology and epidemiology aspects: Abstracts for scientific conference*. Pokrov: VNIIViM; 1978; 16–17. (in Russ.)

3. Kolbasova O. L. Karyological and cytochemical characterization of continuous cell lines permissive and non-permissive (resistant) to classical swine fever virus: Author's abstract, Thesis for degree of Candidate of Science (Biology). Pokrov; 2000. 21 p. (in Russ.)

4. Filina A. Yu., Gerasimov V. N., Baibikov T. Z., Yegorova A. I. Cultivation of different classical swine fever virus strains in continuous cell cultures. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2007; 5: 278–284. eLIBRARY ID: 14454067. (in Russ.)

5. Stroganova I. Ya., Trukhonenko A. A. Use of cell culture in virology: methodical guidelines. Krasnoyarsk: KrasSAU; 2013. 48 p. Available at: http://www.kgau.ru/sveden/2017/ipbivm/mu_360501_9.pdf. (in Russ.)

6. Pankova G. E. Cell population selection and morphologic characteristics of clones from the PP(RS) and PK-15 transplantable swine kidney cell lines. *Tsitologiya*. 1976; 18 (8): 1036–1039. PMID: 988662. (in Russ.)

7. Polyanskaya G. G. Cell line generation, main characteristics and variability. In: *Cell cultivation methods*. Saint Petersburg: Polytechnic University; 2008; 22–40. (in Russ.)

8. Ruggli N., Summerfield A., Häni R. E. From pigs to cells: Virulence of classical swine fever virus is predicable in cell cultures. *3R-Info-Bulletin*. 2010; 44. Available at: <https://www.forschung3r.ch/data/publications/Ruggli-Bul44.pdf>.

9. Kasza L., Shaddock J. A., Christofinis G. J. Establishment, viral susceptibility and biological characteristics of a swine kidney cell line SK-6. *Res. Vet. Sci.* 1972; 13 (1): 46–51. PMID: 4336054.

10. Galnbek T. V. Porcine thyroid and intestinal cell cultures and their use in virology and biotechnology: Author's abstract, Thesis for degree of Candidate of Science (Biology). Moscow; 1991. 25 p. (in Russ.)

11. Dyakonov L. P., Subaev G. H., Galnbek T. V., Taktashev Sh. S., Nepoklonov E. A., Fedorova E. S., Rasulev O. Sh. Methodical recommendations for preparation of cells from porcine thyroid and other organs and their cultivation. Moscow; 1985. 19 p. Available at: <https://meganorm.ru/Data2/1/4293737/4293737310.pdf>. (in Russ.)

12. Zhdanova N. A. Preparation of suspension continuous porcine testicular cell line and optimization of its cultivation conditions: Author's abstract, Thesis for degree of Candidate of Science (Biology). Pokrov; 2009. 25 p. (in Russ.)

13. Makaryan E. A., Balayan O. R., Dichenskiy A. V., Abylkasimov D. A., Degtyarev V. P., Fedotov S. V. Method for obtaining of preparation based on stem cells selected from pigs spleen tissue, for prevention and treatment of infectious and non-infectious diseases of domestic and farm animals. Patent No. 2611205 Russian Federation, Int. Cl. C12N 5/077 (2010.01), C12N 5/0797 (2010.01), A61P 19/02 (2006.01), A61P 31/00 (2006.01). FGBOU VO "Tverskaya gosudarstvennaya selskokhozyajstvennaya akademiya". No. 2015148589. Date of filing: 12.11.2015. Date of publication: 21.02.2017. Bull. No 6. Available at: https://patents.s3.yandex.net/RU2611205C1_20170221.pdf. (in Russ.)

14. Kolbasova O. L., Jurkov S. G., Neverovskaja N. S., Dmitrenko V. V., Lyska V. M. Strain of diploid cells of synovial membrane of young pig *Sus scrofa*, used for virology. Patent No. 2506310 Russian Federation, Int. Cl. C12N 5/077 (2010.01), G01N 33/569 (2006.01). GNU Vserossiiskij nauchno-issledovatel'skij institute veterinarnoi virusologii i mikrobiologii Rossel'khozakademii. No. 012131176/10. Date of filing: 23.07.2012. Date of publication: 10.02.2014. Bull. No 4. Available at: https://patents.s3.yandex.net/RU2506310C1_20140210.pdf. (in Russ.)

15. Portugal R., Goatley L. C., Husmann R., Zuckermann F. A., Dixon L. K. A porcine macrophage cell line that supports high levels of replication of OIRT88/3, an attenuated strain of African swine fever virus. *Emerg. Microbes Infect.* 2020; 9 (1): 1245–1253. DOI: 10.1080/22221751.2020.1772675.

16. Weingartl H. M., Sabara M., Pasick J., van Moorlehem E., Babiuk L. Continuous porcine cell lines developed from alveolar macrophages: partial characterization and virus susceptibility. *J. Virol. Methods.* 2002; 104 (2): 203–216. DOI: 10.1016/S0166-0934(02)00085-X.

17. Lee Y. J., Park C. K., Nam E., Kim S. H., Lee O. S., Lee du S., Lee C. Generation of a porcine alveolar macrophage cell line for the growth of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *J. Virol. Methods.* 2010; 163 (2): 410–415. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.11.003.

18. Chitko-McKown C. G., Chapes S. K., Miller L. C., Riggs P. K., Ortega M. T., Green B. T., McKown R. D. Development and characterization of two porcine monocyte-derived macrophage cell lines. *Results Immunol.* 2013; 3: 26–32. DOI: 10.1016/j.rinim.2013.03.001.

19. Kadoi K., Tsukise A., Shiba H., Ikeda K., Seki T., Ariga T. Establishment of a swine monocyte cell line. *New Microbiol.* 2001; 24 (3): 243–247. PMID: 11497081.
20. Takenouchi T., Kitani H., Suzuki S., Nakai M., Fuchimoto D. I., Tsukimoto M., et al. Immortalization and characterization of porcine macrophages that had been transduced with lentiviral vectors encoding the SV40 large T antigen and porcine telomerase reverse transcriptase. *Front. Vet. Sci.* 2017; 4:132. DOI: 10.3389/fvets.2017.00132.
21. Takenouchi T., Masujin K., Miyazaki A., Suzuki S., Takagi M., Kokuho T., Uenishi H. Isolation and immortalization of macrophages derived from fetal porcine small intestine and their susceptibility to porcine viral pathogen infections. *Front. Vet. Sci.* 2022; 9:919077. DOI: 10.3389/fvets.2022.919077.
22. Talbot N. C., Paape M., Worku M. Selective expansion and continuous culture of macrophages from adult pig blood. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1998; 64 (2): 173–190. DOI: 10.1016/S0165-2427(98)00128-7.
23. Wardley R. C., Lawman M. J., Hamilton F. The establishment of continuous macrophage cell lines from peripheal blood monocytes. *Immunology.* 1980; 39 (1): 67–73. PMID: 6769783.
24. Graphodatsky A. S., Radzhabli S. I. Farmed and laboratory mammal chromosomes: atlas. Novosibirsk: Nauka; 1988. 127 p. (in Russ.)
25. Dyakonov L. P., Gal'nbek T. V., Akinshina G. T., Abdrakhmanov I. K., Samuilenko A. Ya., Dagadanova A. V., et al. Specialized collection of continuous somatic cell lines of livestock and game animals, RCCC(V) (Livestock animals Russian Academy of Agricultural Sciences): catalogue. 2nd ed., enlarged. Moscow: VIEV; 2006. 115 p. (in Russ.)
26. Kuleshov K. V. Species identification of cell cultures with molecular-genetic methods: Author's abstract, Thesis for degree of Candidate of Science (Biology). Shchyolkovo; 2009. 24 p. (in Russ.)
27. Freshney R. Ian. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique. Hoboken: John Wiley and Sons, Inc.; 2005. 672 p.
28. Moorhead P. S., Nowell P. C., Mellman W. J., Battips D. M., Hungerford D. A. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell. Res.* 1960; 20: 613–616. DOI: 10.1016/0014-4827(60)90138-5.
29. Mamaeva S. E. Chromosomal analysis of cultured cells. In: *Methods of Cell Culture: Collection of Scientific Papers.* Ed. by G. P. Pinaev. Leningrad: Nauka; 1988; 78–79. (in Russ.)
30. Prudnikova E. Ju., Balysheva V. I., Gal'nbek T. V., Balyshev V. M. Finite hybrid subline of cells A₂C₂/9k *Sus scrofa*, used for virological studies of African swine fever virus. Patent No. 2545720 Russian Federation, Int. Cl. C12N 5/073 (2010.01), C12N 7/00 (2006.01). GNU Vserossiiskij nauchno-issledovatel'skij institute veterinarnoj virusologii i mikrobiologii Rossel'khozakademii. No. 2013153452/10. Date of filing: 03.12.2013. Date of publication: 04.10.2015. Bull. No. 10. Available at: https://patents.s3.yandex.net/RU2545720C1_20150410.pdf. (in Russ.)
31. D'jakonov L. P., Majdzh E. V., Gerasimov V. N., Gal'nbek T. V., Dudar L. N., Soldatova N. V., Fedorova E. E., Egorova A. I. Strain of intraspecies hybrid cells of *Suis domestica* used for isolation and cultivation of swine classic plague virus. Patent No. 2082758 Russian Federation, Int. Cl. C12N 5/06. No. 94026140/13. Date of filing: 14.07.1994. Date of publication: 27.06.1996. Available at: https://patents.s3.yandex.net/RU94026140A1_19960710.pdf. (in Russ.)
32. The European Collection of Authenticated Cell Cultures. Cell Lines and Hybridomas. Available at: <https://www.culturecollections.org.uk/products/celllines/index.aspx> (date of access: 12.08.2022).
33. Pan I. C., Shimizu M., Hess W. R. Replication of African swine fever virus in cell cultures. *Am. J. Vet. Res.* 1980; 41 (9): 1357–1367. PMID: 7004279.

Поступила в редакцию / Received 18.01.2023

Поступила после рецензирования / Revised 01.02.2023

Принята к публикации / Accepted 09.02.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Манин Борис Леонидович, кандидат биологических наук, г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5263-1491>, e-mail: manin.boria@yandex.ru.

Трофимова Елена Александровна, заведующий сектором отдела культуры клеток ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; e-mail: trofimova_ea@arriah.ru.

Гаврилова Вера Львовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5843-2779>, e-mail: gavrilova_vl@arriah.ru.

Пузанкова Ольга Сергеевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1584-3169>, e-mail: puzankova@arriah.ru.

Boris L. Manin, Candidate of Science (Biology), Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5263-1491>, e-mail: manin.boria@yandex.ru.

Elena A. Trofimova, Head of Sector, Cell Cultivation Unit, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; e-mail: trofimova_ea@arriah.ru.

Vera L. Gavrilova, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5843-2779>, e-mail: gavrilova_vl@arriah.ru.

Olga S. Puzankova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for African Swine Fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1584-3169>, e-mail: puzankova@arriah.ru.



Изучение культуральных свойств изолята возбудителя коронавирусного энтерита собак в различных культурах клеток

А. А. Комарова, Т. С. Галкина

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

РЕЗЮМЕ

Этиология заболеваний, сопровождающихся поражением желудочно-кишечного тракта у собак, многообразна. Вторым наиболее распространенным у собак энтеропатогеном вирусной природы в мире после парвовируса является коронавирус CCoV. Обширные исследования, проведенные учеными из разных стран, доказывают повсеместное распространение коронавирусной инфекции в популяции собак. В связи с этим не теряют актуальности вопросы профилактики данного заболевания, в первую очередь изготовление эффективных иммунобиологических препаратов, обеспечивающих надежную защиту от данной инфекции. Целью настоящей работы являлось изучение культуральных свойств изолята CCoV, выбор наиболее подходящей для его репродукции клеточной системы и оптимизация параметров культивирования вируса в чувствительных клеточных линиях. В опытах использовали изолят CCoV, выделенный из патологического материала, полученного от погибшего щенка с симптомами энтерита. В ходе исследований было испытано семь перевиваемых и две первично трипсинизированные культуры клеток и установлено, что наиболее чувствительной клеточной системой для репродукции данного изолята является перевиваемая культура клеток почки кошки CRFK, в которой на 2-е сут культивирования отмечалось характерное цитопатическое действие. Титр инфекционной активности вируса в данной культуре был на уровне $3,58 \pm 0,14 \lg \text{TCID}_{50}/\text{cm}^3$. Определено, что такие клеточные линии, как перевиваемая культура клеток селезенки кошки (FS) и первично трипсинизированная культура клеток селезенки котенка (СК), также чувствительны к изоляту CCoV, но в меньшей степени, чем CRFK. Также в ходе опытов изучалось влияние на накопление коронавируса таких показателей, как множественность заражения, время культивирования, способ заражения, срок предварительного контакта (адсорбции) вируса с культурой клеток и возраст клеточной системы для некоторых выбранных культур клеток. Сделан вывод, что линии клеток CRFK и FS могут быть использованы для получения вирусного материала с целью разработки средств диагностики и специфической профилактики коронавирусного энтерита собак.

Ключевые слова: коронавирус собак (CCoV), коронавирусный энтерит собак, кишечные инфекции собак, культивирование вирусов, перевиваемые культуры клеток, первично трипсинизированные культуры клеток

Благодарности: Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам сектора культуры клеток ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Для цитирования: Комарова А. А., Галкина Т. С. Изучение культуральных свойств изолята возбудителя коронавирусного энтерита собак в различных культурах клеток. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 23–28. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-23-28.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Комарова Анна Александровна, аспирант, ведущий ветеринарный врач отдела профилактики болезней мелких домашних животных ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: komarova_aa@arriah.ru.

Study of cultural properties of canine enteric coronavirus isolate in different cell cultures

A. A. Komarova, T. S. Galkina

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

SUMMARY

The etiology of the diseases affecting gastrointestinal tract of dogs is variable. The second most important enteric viral pathogen in the world after parvovirus is coronavirus (CCoV). Vast studies by scientists from different countries evidence the ubiquitous spread of coronavirus infection in dog populations. In this regard, the prevention of this disease is still an acute problem; firstly this means the development of effective vaccines, which can provide a reliable protection from the infection. The aim of this work was to study the CCoV isolate cultural properties, the selection of cell cultures most suitable for its reproduction and optimization of virus cultivation parameters in sensitive cell lines. The CCoV isolate recovered from the pathological material of a dead puppy with enteritis symptoms was used in the study. Seven continuous and two primary trypsinized cell cultures were tested during the study and it was established that the most sensitive cell culture for the reproduction of this isolate was continuous Crandell-Rees Feline Kidney Cells (CRFK) in which a typical cytopathic effect was noted on Day 2 of the cultivation. Virus infectivity titer in this culture was $3.58 \pm 0.14 \lg \text{TCID}_{50}/\text{cm}^3$. It was established that such cell lines as feline spleen cells (FS) and primary trypsinized kitten spleen cells (KS) are also sensitive to the CCoV isolate but less than CRFK cells. Effect of such parameters as multiplicity of infection, cultivation time, inoculation technique, adsorption period and cell line age on coronavirus growth rate was studied for some selected cell cultures. It was concluded that CRFK and FS cells can be used for the propagation of viral material to develop diagnostic tools and vaccines against canine enteric coronavirus.

© Комарова А. А., Галкина Т. С., 2023

Keywords: canine coronavirus (CCoV), canine enteric coronavirus, canine intestinal infections, virus culture, continuous cell lines, primary trypsinized cells

Acknowledgements: The authors are deeply grateful to the employees of the FGBI "ARRIAH" Cell Culture Sector.

For citation: Komarova A. A., Galkina T. S. Study of cultural properties of canine enteric coronavirus isolate in different cell cultures. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 23–28. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-23-28.

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

For correspondence: Anna A. Komarova, Post-Graduate Student, Leading Veterinarian, Department for Pet Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: komarova_aa@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Симптомы расстройства желудочно-кишечного тракта у щенков – частая причина обращений в ветеринарную клинику. Этиологические факторы, ответственные за их возникновение, разнообразны. Коронавирус собак (CCoV) является вторым по распространенности в мире после парвовируса энтеропатогеном собак вирусной этиологии [1–3].

Серологические и вирусологические исследования показали, что CCoV широко распространен в популяции собак, особенно в питомниках и приютах для животных [4]. Он также обнаружен у диких псовых, в том числе лисиц, енотовидных собак и волков [5–7]. Начиная с конца 1990-х и в 2000-х гг. учеными разных стран неоднократно выявлялись высоковирулентные штаммы возбудителя коронавирусной инфекции собак [8–10]. В 2005 г. в Италии был выделен пантропный CCoV (pCCoV), вызывающий системное заболевание у щенков с последующим летальным исходом [11]. В 2008 г. случаи заболевания, связанного с пантропным CCoV, зарегистрированы во Франции и Бельгии [12], в 2010 г. – в Греции [13]. В 2020 г. большое количество случаев гастроэнтерита, вызванного коронавирусной инфекцией собак, зафиксировано в Великобритании [14, 15].

Результаты исследований по молекулярной эпизоотологии CCoV, проведенные в Италии и Австралии, позволяют утверждать, что вирус меняется и его вирулентность постепенно растет [16]. В связи с этим остается актуальным вопрос о необходимости разработки вакцин, обеспечивающих надежную защиту от новых, в том числе пантропных, штаммов возбудителя коронавирусной инфекции собак, так как существующие вакцины показали ограниченную эффективность [17].

Целью данной работы являлось изучение культуральных свойств изолята коронавируса собак в первичных и перевиваемых культурах клеток для дальнейшего применения в изготовлении иммунологических препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследованиях использовали изолят CCoV, выделенный из патологического материала, полученного от погибшего щенка с симптомами энтерита.

Для изучения культуральных свойств вируса были выбраны следующие культуры клеток:

– первично трипсинизированные и субкультуры клеток: почки котенка (ПК), селезенки котенка (СК);

– перевиваемые культуры клеток: почки кошки (CRFK), селезенки кошки (FS), почки собаки (MDCK), а также почки зеленой мартышки (Vero-76), нейробластомы мыши (Neuro-2a), почки свиньи (IB-RS-2) и яичников домашней козы (ЯДК-04).

Культуры клеток были получены из сектора культуры клеток ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Использовали 2 способа заражения культур клеток:

– заражение монослойной культуры клеток: вирус вносили на полностью сформированный клеточный монослой первично трипсинизированных и перевиваемых культур клеток;

– заражение суспензии клеток: вирус вносили в суспензию клеток при их посеве.

Вирус культивировали в пластиковых флаконах с площадью рабочей поверхности 25 см² (T25).

Перед инокуляцией вируса на клеточный монослой из флаконов удаляли питательную среду. Затем вносили вирус и помещали культуральные флаконы на 60 мин в CO₂-инкубатор при (37,0 ± 0,5) °C для контакта (адсорбции) вируса с клеточным монослоем. После контакта (адсорбции) во флаконы добавляли поддерживающую среду. В качестве поддерживающей среды использовали полусинтетическую питательную среду ПСС, приготовленную по прописи ФГБУ «ВНИИЗЖ», с добавлением 2% фетальной сыворотки КРС, 2% L-глутамин, стрептомицина (100 мкг/см³) и пенициллина (100 ЕД/см³).

По окончании культивирования каждый культуральный флакон подвергался замораживанию при температуре минус (45 ± 5) °C и оттаиванию при (20 ± 2) °C с дезагрегацией монослоя путем периодического встряхивания флакона, после чего из флаконов отбирали пробы для определения титра инфекционной активности изолята CCoV.

Инфекционную активность изолята CCoV определяли в культуре клеток CRFK, выращенной в 96-луночных планшетах Costar® (Corning, США), методом микротитрования по общепринятой методике. Микропланшеты ежедневно просматривали под инвертированным микроскопом Olympus CKX53 (Япония), отмечая количество лунок с характерным цитопатическим действием (ЦПД) вируса. Расчет титра инфекционной активности проводили по методу Кербера и выражали в Ig TC₅₀/см³. Материал дополнительно тестировали на наличие возбудителя коронавирусного энтерита собак посредством коммерческих иммунохроматографических тест-систем Asan Easy Test® CCV Ag (Asan Pharmaceutical Co., Ltd., Республика Корея).

Таблица 1
Чувствительность различных перевиваемых культур клеток к изоляту CCoV ($n = 3$)

Table 1
Sensitivity of different continuous cell lines to the CCoV isolate ($n = 3$)

Номер пассажа вируса	Титр инфекционной активности, Ig ТЦД ₅₀ /см ³						
	CRFK	MDCK	FS	Vero-76	ЯДК-04	Neuro-2a	IB-RS-2
1	3,08 ± 0,14	1,25 ± 0,25	2,50 ± 0,25	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
2	3,33 ± 0,14	< 1,0	2,92 ± 0,14	< 1,0	< 1,0	< 1,0	< 1,0
3	3,58 ± 0,14	< 1,0	3,08 ± 0,14	–	–	–	–
4	3,58 ± 0,14	–*	3,08 ± 0,14	–	–	–	–
5	3,58 ± 0,14	–*	3,08 ± 0,14	–	–	–	–

* не исследовали (not tested).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для изучения чувствительности различных клеточных культур к изоляту коронавируса собак было проведено 5 последовательных пассажей в перевиваемых (CRFK, MDCK, FS, Vero-76, ЯДК-04, Neuro-2a, IB-RS-2), первично трипсинизированных и субкультурах клеток (ПК, СК). Наличие антигена CCoV в культуральной жидкости после каждого пассажа определяли иммунохроматографическими тест-системами (ИХТС).

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 1.

Установлено, что изолят CCoV активно репродуцировался и накапливался только в культурах клеток CRFK и FS. В других культурах клеток CCoV не размножался. Максимальное накопление вируса отмечали с 3-го пассажа в клеточной культуре CRFK ($3,58 \pm 0,14$ Ig ТЦД₅₀/см³), а при микроскопировании культуры клеток начиная с 1-го пассажа наблюдалось характерное ЦПД (рис. 1–4).

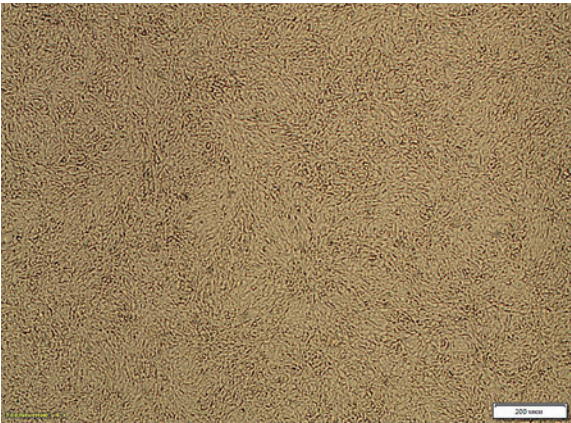


Рис. 1. Клетки монослоя CRFK без инокуляции CCoV через 3 сут (увеличение 40×)

Fig. 1. CCoV not-inoculated CRFK monolayer after 3 days (40× magnification)

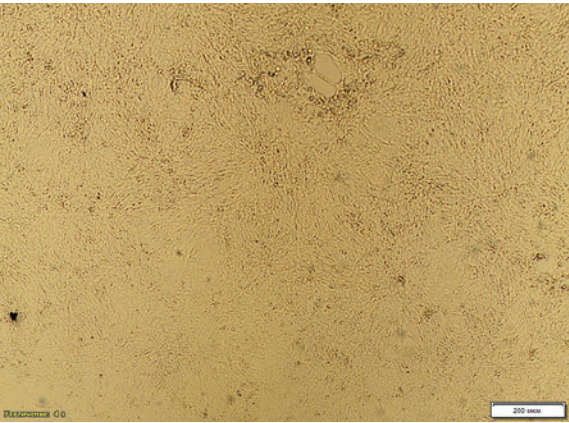


Рис. 2. Клетки монослоя CRFK после инфицирования изолятом CCoV через 2 сут (увеличение 40×)

Fig. 2. CRFK monolayer 2 days post inoculation with CCoV isolate (40× magnification)

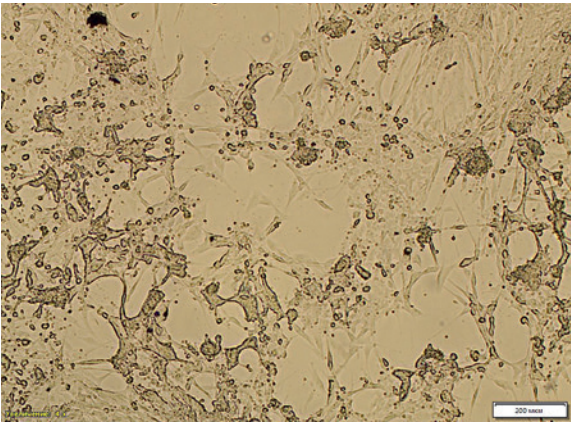


Рис. 3. Клетки монослоя CRFK после инфицирования изолятом CCoV через 3 сут (увеличение 40×)

Fig. 3. CRFK monolayer 3 days post inoculation with CCoV isolate (40× magnification)

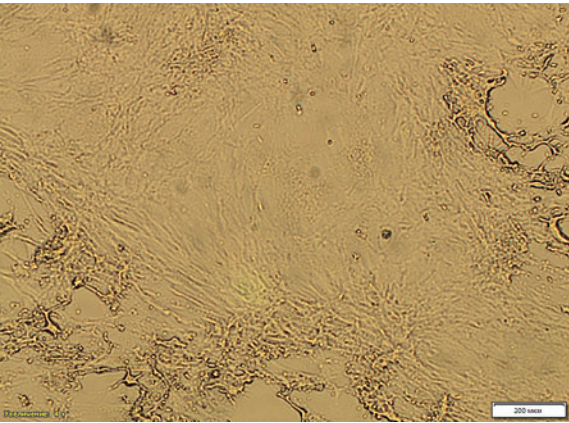


Рис. 4. Клетки монослоя CRFK после инфицирования изолятом CCoV через 3 сут (увеличение 100×)

Fig. 4. CRFK monolayer 3 days post inoculation with CCoV isolate (100× magnification)

Оно выражалось в округлении клеток, истончении цитоплазмы отростков клеток, образовании симпластов и постепенной дегенерации монослоя.

В культуре клеток FS вирус накапливался в меньших количествах, начиная с 3-го пассажа титр составлял $3,08 \pm 0,14 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, при микроскопировании характерного ЦПД не наблюдали. При культивировании вируса в культуре клеток MDCK отмечалось минимальное накопление вируса в 1-м пассаже на уровне $1,25 \pm 0,25 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, однако далее при микротитровании в культуре клеток CRFK не выявлялось характерного ЦПД, а на уровне 4-го пассажа в ИХТС получен отрицательный результат. В других культурах пассирования изолята CCoV оказалось нецелесообразно после 2-го пассажа, так как при микротитровании в лунках с культурой клеток CRFK характерное ЦПД не отмечалось, а ИХТС показали отсутствие антигена возбудителя коронавирусного энтерита собак.

Результаты изучения культуральных свойств изолята CCoV в первично трипсинизированных и субкультурах СК и ПК представлены в таблице 2.

Культивирование вируса в первично трипсинизированной и субкультуре клеток ПК приводило к постепенному снижению его инфекционной активности. На уровне 2-го пассажа ИХТС показал положительный результат на наличие антигена возбудителя коронавирусного энтерита собак. Однако при титровании в культуре клеток CRFK характерного ЦПД в лунках планшета не наблюдалось. На уровне 3-го пассажа результат ИХТС был отрицательным, поэтому дальнейшее

культивирование вируса в первично трипсинизированной и субкультуре клеток ПК стало нецелесообразным. Культивирование изолята CCoV в первично трипсинизированной и субкультуре клеток СК приводило к постепенному накоплению вируса, в результате чего на уровне 5-го пассажа титр инфекционной активности был равен $3,42 \pm 0,14 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. При этом характерного ЦПД в данной культуре клеток не наблюдалось.

Следует отметить, что из всех испытанных культур клеток наиболее подходящими для репродукции данного изолята CCoV можно считать перевиваемые культуры клеток CRFK и FS.

Дальнейшие исследования заключались в изучении влияния на накопление вируса таких показателей, как время культивирования вируса в культурах клеток, в которых изолят CCoV не вызывал ЦПД, множественность заражения, способ заражения, срок предварительного контакта (адсорбции) вируса с культурой клеток и возраст клеточной системы.

Для изучения динамики накопления изолята CCoV в зависимости от времени культивирования использовали культуры клеток, в которых изолят CCoV не вызывал характерного ЦПД и плотный монослой сохранялся в течение всего времени культивирования. Такими культурами являлись перевиваемая культура клеток FS, первично трипсинизированная и субкультура клеток СК. Изолят CCoV культивировали в течение 48, 72, 96 и 120 ч. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 3.

Анализ полученных результатов показал, что культивирование изолята CCoV в течение 48 ч является недостаточным для его максимального накопления, титр инфекционной активности через 2 сут был самым низким. Установлено, что наиболее оптимальным временем культивирования коронавируса является 72 ч (3 сут). Титр инфекционной активности изолята CCoV при этом был самым высоким и находился на уровне $3,17 \pm 0,14$ и $3,42 \pm 0,14 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ в культурах клеток FS и СК соответственно. При дальнейшем культивировании в обеих культурах клеток титр инфекционной активности вируса снижался.

Для изучения влияния множественности заражения на инфекционную активность изолята CCoV применяли следующие дозы инфицирования: 0,0001; 0,001; 0,01 и 0,1 ТЦД₅₀/кл. Исследования проводили с использованием двух перевиваемых культур клеток CRFK и FS. Инкубацию вируса в культуре клеток CRFK прекращали при 80%-м разрушении монослоя и отслоении клеток от стекла. В культуре клеток FS вирус инкубировали в течение 72 ч, так как более ранние опыты показали, что данное время является оптимальным для максимального накопления изолята CCoV в указанной культуре клеток. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 4.

Установлено, что инфекционная активность изолята CCoV в культуре клеток CRFK при множественности заражения 0,01 ТЦД₅₀/кл составляла $3,58 \pm 0,14 \text{ ТЦД}_{50}/\text{кл}$. При более низких дозах заражения (0,0001 и 0,001 ТЦД₅₀/кл) инфекционная активность существенно уменьшалась, а время проявления ЦПД увеличивалось до 96 ч. При множественности заражения, равной 0,1 ТЦД₅₀/кл, наблюдалось более быстрое проявление ЦПД и разрушение 80% монослоя клеток. Однако титр вируса был ниже и находился на уровне $3,25 \pm 0,25 \text{ Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, что связано, вероятно, со слиш-

Таблица 2

Репродукция изолята CCoV в первично трипсинизированных и субкультурах клеток СК и ПК ($n = 3$)

Table 2

CCoV isolate reproduction in primary trypsinized and subculture cells (PC and SC) ($n = 3$)

Культура клеток	Номер пассажа вируса	Время культивирования, ч	Титр инфекционной активности, $\text{Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$	Результат ИХТС
СК	1	72	$1,50 \pm 0,25$	+
	2	72	$2,58 \pm 0,14$	+
	3	72	$2,92 \pm 0,14$	+
	4	72	$2,92 \pm 0,14$	+
	5	72	$3,42 \pm 0,14$	+
ПК	1	72	$2,33 \pm 0,14$	+
	2	72	< 1,0	+
	3	72	—*	—

* не исследовали (not tested).

Таблица 3

Динамика накопления изолята CCoV в зависимости от времени культивирования в перевиваемой, первично трипсинизированной и субкультуре клеток ($n = 3$)

Table 3

CCoV isolate growth dynamics depending on culture time in continuous, primary and subculture cells ($n = 3$)

Культура клеток	Титр инфекционной активности, $\text{Ig ТЦД}_{50}/\text{см}^3$			
	48 ч	72 ч	96 ч	120 ч
FS	$2,75 \pm 0,25$	$3,17 \pm 0,14$	$2,83 \pm 0,29$	$2,67 \pm 0,14$
СК	$3,00 \pm 0,25$	$3,42 \pm 0,14$	$3,17 \pm 0,14$	$3,08 \pm 0,29$

ком быстрым разрушением монослоя, в результате чего вирус не успевал накопиться в максимальной концентрации. Таким образом, оптимальная множественность заражения культуры клеток CRFK изолятом CCoV равна 0,01 ТЦД₅₀/кл.

Инфекционная активность изолята CCoV в культуре клеток FS при множественности заражения 0,1 и 0,01 ТЦД₅₀/кл составила 3,17 ± 0,14 и 3,08 ± 0,14 Ig ТЦД₅₀/см³ соответственно. При более низких дозах заражения (0,0001 и 0,001 ТЦД₅₀/кл) инфекционная активность вируса уменьшалась, поэтому целесообразно проводить заражение культуры клеток FS дозой 0,01 ТЦД₅₀/кл.

На следующем этапе работы провели сравнение двух методов инфицирования культур клеток CRFK и FS: внесение вируса непосредственно в суспензию клеток и с адсорбцией на сформированном клеточном монослое в течение часа.

Из результатов, представленных в таблице 5, видно, что титр инфекционной активности изолята CCoV был максимальным при заражении на клеточный монослой. В культурах клеток CRFK и FS он составил 3,58 ± 0,14 и 3,17 ± 0,14 Ig ТЦД₅₀/см³ соответственно. При заражении суспензии клеток CRFK и FS инфекционная активность вируса была ниже указанных показателей.

Также в настоящем исследовании было изучено влияние на динамику накопления изолята CCoV такого фактора, как время предварительного контакта (адсорбции) вируса с монослоем перевиваемой культуры клеток CRFK. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 6.

Установили, что культивирование изолята CCoV без предварительного контакта (адсорбции) с монослоем культуры клеток CRFK сопровождалось низким накоплением вируса, титр инфекционной активности находился на уровне 2,42 ± 0,14 Ig ТЦД₅₀/см³. С увеличением времени предварительного контакта (адсорбции) вируса с клеточным монослоем титр инфекционной активности изолята CCoV постепенно увеличивался с 3,08 ± 0,14 Ig ТЦД₅₀/см³ при адсорбции в течение 30 мин до 3,33 ± 0,14 Ig ТЦД₅₀/см³ при адсорбции в течение 60 мин. В дальнейшем при увеличении времени адсорбции до 90 мин инфекционная активность вируса незначительно снижалась. Таким образом, оптимальным временем контакта (адсорбции) вируса с монослоем клеток можно считать 60 мин.

Завершающим этапом работы являлось изучение влияния возраста культуры клеток на инфекционную активность изолята CCoV. С этой целью была выбрана культура клеток CRFK, так как именно в ней вирус накапливается в максимальной концентрации и проявляет видимое ЦПД. Для исследований использовали культуру клеток с полностью сформированным клеточным монослоем.

Как видно из таблицы 7, при инокуляции изолята CCoV на одно- и двухсуточный монослой культуры клеток CRFK показатели титра инфекционной активности вируса не отличались и находились на уровне 3,08 ± 0,14 Ig ТЦД₅₀/см³. При введении вируса в трехсуточную культуру клеток CRFK инфекционная активность изолята CCoV увеличивалась незначительно и составила 3,17 ± 0,14 Ig ТЦД₅₀/см³. При инфицировании изолятом CCoV четырехсуточной культуры клеток репродукция вируса снижалась до 2,92 ± 0,14 Ig ТЦД₅₀/см³, а время культивирования возрастало до 96 ч. Снижение

Таблица 4
Влияние множественности заражения на инфекционную активность изолята CCoV (n = 3)

Table 4
Effect of multiplicity of infection on CCoV isolate infectivity (n = 3)

Культура клеток	MOI, ТЦД ₅₀ /кл	Время культивирования, ч	Титр инфекционной активности, Ig ТЦД ₅₀ /см ³
CRFK	0,1	48	3,25 ± 0,25
	0,01	72	3,58 ± 0,14
	0,001	96	1,50 ± 0,25
	0,0001	96	1,08 ± 0,14
FS	0,1	72	3,17 ± 0,14
	0,01	72	3,08 ± 0,14
	0,001	72	2,92 ± 0,38
	0,0001	72	2,08 ± 0,14

MOI – множественность заражения (multiplicity of infection).

Таблица 5
Влияние метода заражения на инфекционную активность изолята CCoV в перевиваемых культурах клеток (n = 3)

Table 5
Effect of inoculation technique on CCoV isolate infectivity in continuous cells (n = 3)

Метод заражения	MOI, ТЦД ₅₀ /кл	Время культивирования, ч	Культура клеток	Титр инфекционной активности, Ig ТЦД ₅₀ /см ³
Монослой	0,01	72	CRFK	3,58 ± 0,14
Суспензия	0,01	48		3,17 ± 0,14
Монослой	0,01	72	FS	3,17 ± 0,14
Суспензия	0,01	72		2,75 ± 0,25

MOI – множественность заражения (multiplicity of infection).

Таблица 6
Влияние времени предварительного контакта (адсорбции) на динамику накопления изолята CCoV в культуре клеток CRFK (n = 3)

Table 6
Effect of adsorption period on CCoV isolate growth rate in CRFK cells (n = 3)

Показатели	Время адсорбции, мин			
	без контакта (адсорбции)	30	60	90
MOI, ТЦД ₅₀ /кл	0, 01			
Титр инфекционной активности, Ig ТЦД ₅₀ /см ³	2,42 ± 0,14	3,08 ± 0,14	3,33 ± 0,14	3,25 ± 0,25

MOI – множественность заражения (multiplicity of infection).

Таблица 7
Влияние возраста перевиваемой культуры клеток CRFK на инфекционную активность изолята CCoV (n = 3)

Table 7
Effect of CRFK cell age on infectivity of CCoV isolate (n = 3)

Возраст культуры, сут	Время культивирования, ч	Титр инфекционной активности, Ig ТЦД ₅₀ /см ³
1	48	3,08 ± 0,14
2	72	3,08 ± 0,14
3	72	3,17 ± 0,14
4	96	2,92 ± 0,14

инфекционной активности вируса может быть связано со старением культуры клеток CRFK и замедлением обменных процессов в клетках. Таким образом, для накопления изолята ССoV в максимальном количестве целесообразно использовать культуру клеток CRFK с полностью сформированным 1–3-суточным монослоем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящей работе исследовали возможность репродукции изолята возбудителя коронавирусного энтерита собак в различных линиях перевиваемых и первично трипсинизированных культур клеток гомологичного и гетерологичного происхождения. При изучении чувствительности перевиваемых культур клеток к изоляту ССoV установлено, что эффективными системами для получения высокоактивной вирусной суспензии являются культуры клеток CRFK и FS. Указанные линии клеток могут быть использованы для получения вирусного материала с целью разработки средств диагностики и специфической профилактики коронавирусного энтерита собак. Как показали исследования, оптимальной дозой заражения культуры клеток CRFK является 0,01 ТЦД₅₀/кл, при которой титр инфекционной активности вируса составил $3,58 \pm 0,14 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$. Для культуры клеток FS целесообразно использовать дозу заражения 0,01 ТЦД₅₀/кл. Установлено, что вирус накапливается в максимальном количестве при инфицировании культуры клеток CRFK в полностью сформированный 1–3-суточный клеточный монослой и культивировании в течение 48–72 ч, а для культуры клеток FS оптимальными условиями являются инокуляция вируса на сформированный клеточный монослой и культивирование в течение 72 ч.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Alves C. D. B. T., Granados O. F. O., Budaszewski R. D. F., Streck A. F., Weber M. N., Cibulski S. P., et al. Identification of enteric viruses circulating in a dog population with low vaccine coverage. *Braz. J. Microbiol.* 2018; 49 (4): 790–794. DOI: 10.1016/j.bjm.2018.02.006.
2. McElligott S., Collins P. J., Sleator R. D., Martella V., Decaro N., Buonavoglia C., O'Shea H. Detection and genetic characterization of canine parvoviruses and coronaviruses in southern Ireland. *Arch. Virol.* 2011; 156 (3): 495–503. DOI: 10.1007/s00705-010-0861-3.
3. Decaro N., Desario C., Billi M., Mari V., Elia G., Cavalli A., et al. Western European epidemiological survey for parvovirus and coronavirus infections in dogs. *Vet. J.* 2011; 187 (2): 195–199. DOI: 10.1016/j.tvjl.2009.10.027.

4. Decaro N., Buonavoglia C. An update on canine coronaviruses: viral evolution and pathobiology. *Vet. Microbiol.* 2008; 132 (3–4): 221–234. DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.06.007.
5. Ma G. G., Lu C. P. Two genotypes of canine coronavirus simultaneously detected in the fecal samples of healthy foxes and raccoon dogs. *Wei Sheng Wu Xue Bao.* 2005; 45 (2): 305–308. PMID: 15989282. (in Chinese)
6. Rosa G. M., Santos N., Grøndahl-Rosado R., Fonseca F. P., Tavares L., Neto I., et al. Unveiling patterns of viral pathogen infection in free-ranging carnivores of northern Portugal using a complementary methodological approach. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 2020; 69:101432. DOI: 10.1016/j.cimid.2020.101432.
7. Zarnke R. L., Evermann J., Ver Hoef J. M., McNay M. E., Boertje R. D., Gardner C. L., et al. Serologic survey for canine coronavirus in wolves from Alaska. *J. Wildl. Dis.* 2001; 37 (4): 740–745. DOI: 10.7589/0090-3558-37.4.740.
8. Sanchez-Morgado J. M., Poynter S., Morris T. H. Molecular characterization of a virulent canine coronavirus BGF strain. *Virus Res.* 2004; 104 (1): 27–31. DOI: 10.1016/j.virusres.2004.02.038.
9. Evermann J. F., Abbott J. R., Han S. Canine coronavirus-associated puppy mortality without evidence of concurrent canine parvovirus infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2005; 17 (6): 610–614. DOI: 10.1177/104063870501700618.
10. Escutenaire S., Isaksson M., Renström L. H., Klingeborn B., Buonavoglia C., Berg M., et al. Characterization of divergent and atypical canine coronaviruses from Sweden. *Arch. Virol.* 2007; 152 (8): 1507–1514. DOI: 10.1007/s00705-007-0986-1.
11. Buonavoglia C., Decaro N., Martella V., Elia G., Campolo M., Desario C., et al. Canine coronavirus highly pathogenic for dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2006; 12 (3): 492–494. DOI: 10.3201/eid1203.050839.
12. Zicola A., Jolly S., Mathijs E., Ziant D., Decaro N., Mari V., Thiry E. Fatal outbreaks in dogs associated with pantropic canine coronavirus in France and Belgium. *J. Small Anim. Pract.* 2012; 53 (5): 297–300. DOI: 10.1111/j.1748-5827.2011.01178.x.
13. Ntakis V., Mari V., Danika S., Fragkiadaki E., Buonavoglia C. An outbreak of canine coronavirus in puppies in a Greek kennel. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2010; 22 (2): 320–323. DOI: 10.1177/104063871002200231.
14. Radford A. D., Singleton D. A., Jewell C., Appleton C., Rowlingson B., Hale A. C., et al. Outbreak of severe vomiting in dogs associated with a canine enteric coronavirus, United Kingdom. *Emerg. Infect. Dis.* 2021; 27 (2): 517–528. DOI: 10.3201/eid2702.202452.
15. Collins M., Singleton D. A., Noble P. J. M., Pinchbeck G. L., Smith S., Brant B., et al. Small animal disease surveillance 2020/21: SARS-CoV-2, syndromic surveillance and an outbreak of acute vomiting in UK dogs. *Vet. Rec.* 2021; 188 (8):304. DOI: 10.1002/vetr.427.
16. Pratelli A., Elia G., Martella V., Tinelli A., Decaro N., Marsilio F., et al. M gene evolution of canine coronavirus in naturally infected dogs. *Vet. Rec.* 2002; 151 (25): 758–761. PMID: 12521247.
17. Wang X., Li C., Guo D., Wang X., Wei S., Geng Y., et al. Co-circulation of canine coronavirus I and IIa/b with high prevalence and genetic diversity in Heilongjiang Province, Northeast China. *PLoS One.* 2016; 11 (1):e0146975. DOI: 10.1371/journal.pone.0146975.

Поступила в редакцию / Received 22.12.2022

Поступила после рецензирования / Revised 25.01.2023

Принята к публикации / Accepted 10.02.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Комарова Анна Александровна, аспирант, ведущий ветеринарный врач отдела профилактики болезней мелких домашних животных, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1876-2025>, e-mail: komarova_aa@arriah.ru.

Галкина Татьяна Сергеевна, кандидат ветеринарных наук, заведующий отделом профилактики болезней мелких домашних животных, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9494-8537>, e-mail: galkina_ts@arriah.ru.

Anna A. Komarova, Post-Graduate Student, Leading Veterinarian, Department for Pet Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1876-2025>, e-mail: komarova_aa@arriah.ru.

Tatyana S. Galkina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Department for Pet Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9494-8537>, e-mail: galkina_ts@arriah.ru.

FeLV-индуцированный лейкоз кошачьих как естественная модель для изучения патофизиологии лейкозов (обзор)

Т. В. Табакаева^{1,2}, А. В. Цыбульский¹, К. А. Баранчугова¹, И. В. Галкина¹, М. Ю. Щелканов^{1,2,3}

¹ ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет» (Дальневосточный федеральный университет), г. Владивосток, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г. П. Сомова» Роспотребнадзора (ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора), г. Владивосток, Россия

³ ФГБНУ «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук (ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН), г. Владивосток, Россия

РЕЗЮМЕ

Лейкозы — большая группа различных по этиопатогенетическим механизмам заболеваний, распространенных практически у всех видов млекопитающих. В обзоре внимание уделено лейкозу кошек, или лейкемии кошачьих, — часто встречающемуся заболеванию домашних и диких представителей семейства кошачьих (*Carnivora, Felidae*), которое является одной из основных причин их смертности. Дана характеристика этиологии и патогенеза лейкемии кошачьих, оцениваются возможные способы лечения и профилактики инфекции, а также возможность использования домашней кошки как модели для изучения лейкозов семейства кошачьих. Этиологический агент лейкемии кошачьих — вирус лейкемии кошачьих (FeLV — Feline leukemia virus), геном которого представлен одноцепочечной РНК, упакованной в капсид икосаэдрической симметрии, формируемый мономерами капсидного белка р27. Клинические проявления лейкемии у кошачьих связаны с высокой вирулентностью вируса и характеризуются ярко выраженной клинической картиной и развитием полиорганной недостаточности. Лечение лейкемии у кошек малоэффективно и направлено в основном на поддержание функционирования органов и систем. Также применяются иммуномодуляторы и химиотерапия. В качестве превентивной меры используется вакцинопрофилактика, однако существующие на рынке адъювантные и безадъювантные вакцины не обеспечивают надежной защиты от инфекции. Вирус лейкемии встречается у диких кошачьих, в том числе у редких и исчезающих видов, что, несомненно, влияет на численность их популяций. Несмотря на то что данных по лейкемии у диких кошачьих крайне мало, отдельные зарегистрированные случаи свидетельствуют о том, что заболевание у крупных кошек также имеет тяжелое течение и приводит к летальному исходу. Лейкемия кошачьих, несмотря на накопленный массив данных, и по сей день остается серьезной, нерешенной проблемой не только для специалистов ветеринарной практики, но также для экологов, зоологов и вирусологов, чья область исследования так или иначе связана с семейством кошачьих, изучением ретровирусов и сохранением биоразнообразия на планете. Необходимы дальнейшие прикладные и фундаментальные исследования и их верификация в области изучения вируса лейкемии кошачьих, лечения и профилактики лейкоза.

Ключевые слова: обзор, лейкоз кошачьих, ретровирусы, вирус лейкемии кошачьих, экспериментальная модель

Благодарности: Исследование выполнено при поддержке РФФИ в рамках проекта 18-34-00075 «Изучение состояния системы интерферона у домашних кошек с сочетанной ретро- и парвовирусной патологией и различными экто- и эндопаразитами и разработка эффективных программ интерферонотерапии сочетанных вирусно-паразитарных заболеваний кошек».

Для цитирования: Табакаева Т. В., Цыбульский А. В., Баранчугова К. А., Галкина И. В., Щелканов М. Ю. FeLV-индуцированный лейкоз кошачьих как естественная модель для изучения патофизиологии лейкозов (обзор). *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 29–37. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-29-37.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Табакаева Татьяна Владимировна, научный сотрудник лаборатории эктопаразитологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, 690087, Россия, Приморский край, г. Владивосток, ул. Сельская, д. 1, e-mail: rabchan1992@gmail.com.

FeLV-induced feline leukemia as a natural model for leukemia pathophysiology study (review)

T. V. Tabakaeva^{1,2}, A. V. Tsybulsky¹, K. A. Baranchugova¹, I. V. Galkina¹, M. Yu. Shchelkanov^{1,2,3}

¹ Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

² FSBSI "Research Somov Institute of Epidemiology and Microbiology" (Somov Institute of Epidemiology and Microbiology), Vladivostok, Russia

³ Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch of the Russian Academy of Sciences (FSCEATB FEB RAS), Vladivostok, Russia

SUMMARY

Leukemia is a large group of diseases different in etiopathogenetic mechanisms and common in almost all mammalian species. The review focuses on feline leukemia, a common disease of domestic and wild felids (*Carnivora, Felidae*), being one of the main causes of their deaths. Feline leukemia pathogenesis and etiology are described; possible methods for the infection treatment and prevention, as well as possibility of using cats as a model for feline leukemia study are assessed. Feline leukemia etiological agent is a feline leukemia virus (FeLV), having single-stranded RNA genome surrounded with icosahedral capsid formed by p27 capsid protein monomers. Leukemia clinical manifestations in felids depend on high virulence of the virus and the disease is characterized with pronounced clinical picture

and multiple organ dysfunction. Treatment of leukemia in cats is ineffective and is mainly aimed at maintaining the functions of the body organs and systems. Immunomodulators and chemotherapy are also used. Vaccination is used as a preventive measure, but commercially available adjuvanted and non-adjuvanted vaccines do not confer effective protection from the infection. The leukemia virus is reported in wild felids including rare and endangered feline species that is undoubtedly affects their population sizes. Despite very few data on leukemia, the reported cases show that leukemia in large cats is also severe and fatal. Feline leukemia, despite the accumulated data, remains an ongoing serious and unresolved problem not only for veterinarians, but also for ecologists, zoologists and virologists involved in the research related to the feline family, study of retroviruses and biodiversity conservation on the planet. Further applied and fundamental research and verification thereof in the field of feline leukemia virus study, leukemia treatment and prevention are required.

Keywords: review, feline leukemia, retroviruses, feline leukemia virus, experimental models

Acknowledgements: The study was performed with support of the Russian Foundation for Basic Research (RFBR) in the framework of project 18-34-00075 "Study of interferon system state in domestic cats with retro- and parvovirus pathology associated with ecto- and endoparasites and development of effective programmes on interferon therapy of concomitant viral-parasitic diseases in cats".

For citation: Tabakaeva T. V., Tsybulsky A. V., Baranchugova K. A., Galkina I. V., Shchelkanov M. Yu. FeLV-induced feline leukemia as a natural model for leukemia pathophysiology study (review). *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 29–37. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-29-37.

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

For correspondence: Tatyana V. Tabakaeva, Researcher, Laboratory of Ectoparasitology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Russia, Primorsky Krai, Vladivostok, ul. Sel'skaya, 1, e-mail: rabchan1992@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Лейкозы – это большая группа различных по этиологии и патогенезу заболеваний, представляющих собой частный случай гемобластозов (от др.-греч. αἷμα – кровь и βλαστός – росток), т. е. злокачественных заболеваний кроветворной и лимфатической ткани. Гемобластозы могут реализовываться как в виде системных заболеваний крови – лейкозов (лейкемий), так и в виде регионарных узловых опухолевых новообразований – лимфом и гематосарком. Общим для всех гемобластозов является то, что все заболевания данной группы имеют клональный характер [1, 2]. Причем злокачественно-трансформированный клон может происходить как из незрелых гемопоэтических клеток костного мозга, так и из созревающих и зрелых клеток крови.

Клоны малигнизированных клеток крови и лимфы могут иметь миелоидное или лимфоидное происхождение. Продуктами миелоидного происхождения являются эритроциты, гранулоциты, тромбоциты, моноциты, дендритные клетки, макрофаги и тучные клетки, а продуктами лимфоидного – В-лимфоциты и плазматические клетки, Т-лимфоциты, NK-клетки. В зависимости от того, какая из этих клеточных линий подвергается малигнизации, развивается соответствующий вариант гемобластозов, и таких вариантов, как очевидно, может быть очень много. Вариативность морфологических форм и клинического течения лейкозов обусловлена также и тем, что малигнизированные клетки крови могут находиться в довольно большом диапазоне степени зрелости – от клеток с незначительными отклонениями уровня дифференцировки до клеток, практически утративших признаки нормального фенотипа (типичным для такой стадии лейкоемического процесса является бластный криз).

Отличия между лейкозами и лимфомами заключаются не только в наличии или отсутствии системности поражения. Известно, что лимфомы в терминальной стадии могут диссеминировать, давать обширные

метастазы в различные ткани и органы, в том числе и в костный мозг [3], т. е. заболевание приобретает системный характер. Однако при лейкозах костный мозг поражается первично, а при лимфомах и гематосаркомах – вторично в результате метастазирования.

В центре внимания данного обзора находятся лейкемии, развивающиеся у животных всех видов семейства кошачьих (*Carnivora, Felidae*), для которых эта форма патологии является чрезвычайно распространенной и представляет собой одну из основных причин смертности. Изучение лейкемии у домашних кошек (*Felis catus*) имеет не только самостоятельное значение [4–6] с точки зрения повышения качества жизни животных-компаньонов и биомедицинской этики [7], но и как доступная модель в отношении краснокнижных кошачьих, ограниченные популяции которых крайне уязвимы. Особенно остро эта проблема стоит на юге российского Дальнего Востока. Опережающее социально-экономическое развитие региона создает объективные угрозы для дальневосточных леопардов (*Panthera pardus orientalis*) и амурских тигров (*Panthera tigris altaica*) [8]. Существуют специализированные ветеринарные приюты, содержащие кошек, больных лейкемией. Наша практика показывает, что при налаживании взаимодействия с такими приютами можно организовать полноценные и хорошо рандомизированные исследования как фундаментальных механизмов развития лейкемий кошек, так и оценки эффективности тех или иных экспериментальных методов лечения. Причем исследования могут проводиться длительное время вплоть до мониторинга выживаемости животных в пределах их естественной продолжительности жизни.

Вирус лейкемии кошачьих (FeLV – Feline leukemia virus) относится к порядку *Ortervirales*, семейству *Retroviridae*, подсемейству *Orthoretrovirinae*, роду *Gammaretrovirus*. Помимо FeLV в этот род орторетровирусов входят синцитиальный вирус цыплят (CSV – Chick syncytial

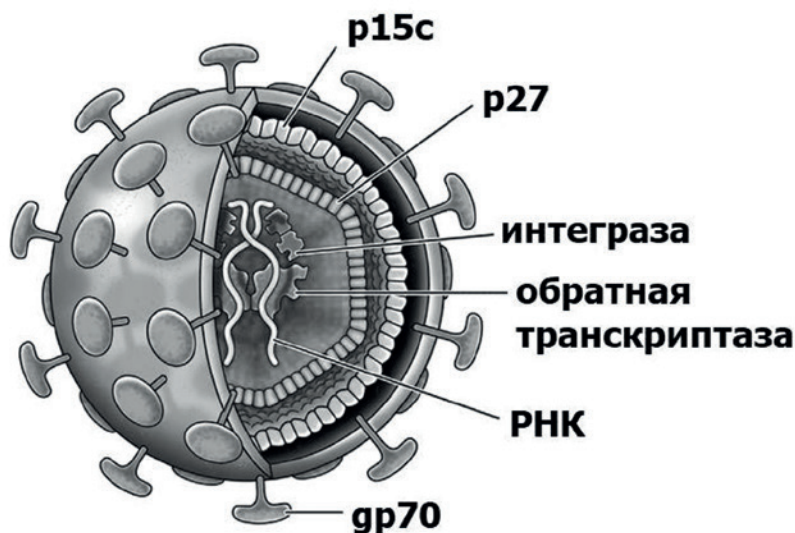


Рис. Морфология вириона вируса лейкемии кошачьих

Fig. Morphology of feline leukemia virus virion

virus), вирус саркомы мышей Финкеля-Бискиса-Джинкина (FBJ MuSV – Finkel-Biskis-Jinkins murine sarcoma virus), вирус саркомы кошачьих Гарднера-Арнштайна (GA-FeSV – Gardner-Arnstein feline sarcoma virus), вирус лейкоза гиббонов (GaLV – Gibbon ape leukemia virus), онковирус морских свинок типа C (GPCOV – Guinea pig type-C oncovirus), вирус саркомы кошачьих Харди-Цукермана (HZ-FeSV – Hardy-Zuckerman feline sarcoma virus), вирус саркомы мышей Харви (Ha-MuSV – Harvey murine sarcoma virus), вирус саркомы мышей Кирстена (Ki-MuSV – Kirsten murine sarcoma virus), ретровирус коал (KoRV – Koala retrovirus), вирус саркомы мышей Молони (Mo-MSV – Moloney murine sarcoma virus), вирус лейкоза мышей (MuLV – Murine leukemia virus), онковирус свиней типа C (PCOV – Porcine type-C oncovirus), вирус ретикулэндотелиоза (REV – Reticuloendotheliosis virus), вирус саркомы кошачьих Снидера-Тайлена (ST-FeSV – Snyder-Theilen feline sarcoma virus), вирус некроза селезенки уток Трагера (TDSNV – Trager duck spleen necrosis virus), ретровирус гадюк (VRV – Viper retrovirus), вирус саркомы шерстистых обезьян (WMSV – Woolly monkey sarcoma virus)¹.

В соответствии с принципами классификации Д. Балтимора семейство *Retroviridae* относят к группе VI (ssRNA-RT), т. е. к вирусам, содержащим фермент обратную транскриптазу (ревертазу), обеспечивающий возможность образования реплики двуцепочечной ДНК (сДНА) на матрице вирусной геномной РНК. Кодированный вирусным геномом фермент интегразы, входящий в состав нуклеопротеида, обеспечивает встраивание сДНА в хромосому клетки-хозяина (встроенная в хромосому сДНА носит название провируса, или рvDNA). В ядре инфицированной клетки некоторые сДНА формируют кольцевые формы (ссДНА), функционирующие в качестве космид [9, 10].

Морфология вириона. Вирион вируса лейкемии кошек – это оболочечная частица сферической формы диаметром 100–110 нм, его строение представлено на рисунке. Вирион содержит две идентичные цепи однонитевой РНК позитивной полярности и ассоции-

рованные с нуклеопротеидом ферменты, обладающие активностью ревертазы, интегразы и протеазы. Нуклеопротеид упакован в капсид икосаэдрической симметрии, формируемый мономерами капсидного белка p27. Наружная липидная оболочка с внутренней стороны импрегнирована матричным белком p15c и содержит трансмембранный белок p15e и рецепторный поверхностный гликопротеин gp70.

Геном FeLV на уровне вириона представлен двумя идентичными цепями однонитевой РНК позитивной полярности и протяженностью 9,6 kb. Вирус содержит нетранслируемые регуляторные длинные концевые повторы (LTR – Long terminal repeats) на 5'- и 3'-концах, которые фланкируют три вирусных гена: *gag* (кодирующий структурные группоспецифические капсидные белки), *pol* (кодирующий протеазу, обратную транскриптазу и интегразу) и *env* (кодирующий поверхностные белки вириона). Геном FeLV имеет две открытые рамки считывания (ORF): 1) *gag + pol*; 2) *env* [11].

Подобно другим ретровирусам, FeLV характеризуется чрезвычайно высоким уровнем вариабельности генома. Это приводит к появлению новых генотипов и антигенных вариантов возбудителя, что является следствием генетического разнообразия вируса, многообразия клинических форм заболевания и в результате осложняет процесс получения эффективных лечебных и вакцинных препаратов [12]. Одним из важнейших механизмов появления точечных нуклеотидных замен является отсутствие у обратной транскриптазы ретровирусов 3'-5'-экзонуклеазной активности, что не позволяет этому ферменту исправлять собственные ошибки во время удлинения цепи [13, 14]. Известны многочисленные рекомбинанты между различными вариантами FeLV, в том числе с эндогенным вирусом enFeLV. Генетическая и антигенная вариабельность возбудителя отражается в большом диапазоне вирулентных свойств FeLV, в разнообразии патогенетических механизмов, ведущих к многообразию клинических проявлений FeLV-инфекции [15]. Концепция о том, что РНК-содержащие вирусы, и в особенности ретровирусы, существуют не иначе, как в форме популяций, представляющих собой сложные топологические объекты в пространстве

¹ Current ICTV Taxonomy Release. Режим доступа: <https://ictv.global/taxonomy>.

изменчивости их цифровых образов [16], была известна еще с конца прошлого века. В работе L. L. Bolin and L. S. Levy [17] эта концепция развивается применительно к FeLV-инфекции: в организме присутствует комплекс из генетически гетерогенных популяций вируса – собственно FeLV, инициировавший заболевание, и продукты его естественной изменчивости, вследствие чего может повышаться агрессивность вируса, все более уходящего из-под контроля со стороны иммунной системы.

Существует несколько вариантов вируса FeLV, объединяемых в подгруппы A, B, C, D, T и TG35, которые также могут иметь несколько вариантов. Важно отметить, что каждый из них имеет свои характерные механизмы рецепции к клеткам-мишеням [18, 19].

Клинические проявления FeLV-инфекции зависят от варианта возбудителя, уровня вирусной нагрузки и иммунного статуса хозяина. FeLV – это высоковирулентный агент, поэтому у большинства инфицированных животных развивается выраженная клиническая манифестация [20]. Наиболее восприимчивыми к FeLV являются котята в возрасте 4 мес., а источником инфекции, как правило, являются стареющие кошки, у которых вирус может находиться в крови и различных тканях внутренних органов, выделяясь с мочой, со слюной и слюной нозоглотки. Вирус может передаваться не только горизонтально, но и вертикально: котята от инфицированной кошки могут быть заражены в период внутриутробного развития.

Инфекция намного чаще выявляется у городских (домашних и бродячих), чем у сельских кошек. Полагают, что это обусловлено более высокой частотой контактов между животными в городских условиях.

Вирус характеризуется низким уровнем устойчивости к действию факторов внешней среды. Вне организма FeLV инактивируется в течение примерно 8 ч. Поэтому основным источником инфекции являются кошки, зараженные FeLV. Животные могут заражаться посредством бытовых контактов, имеются данные о возможности горизонтальной передачи вируса кошачьими блохами вида *Ctenocephalides felis* [21].

Наряду с циркуляцией в популяциях домашних кошек, FeLV обнаружен в популяциях диких кошачьих (тигров, львов, леопардов, пум, ягуаров, рысей, гепардов и др.) [12, 15, 22–26]. Все обследованные к настоящему времени виды семейства *Felidae* оказались в той или иной степени уязвимы для FeLV. Однако есть основания считать, что имеются определенные межвидовые различия по восприимчивости и клинике развивающихся у инфицированных кошек патологических состояний. Например, Т. М. Harrison et al. [15] провели интересное исследование с 11 африканскими львами, пораженными злокачественной лимфомой. У всех обследованных животных лимфомы имели Т-клеточный генез в отличие от В-клеточных лимфом, характерных для других видов кошачьих, в том числе *Felis catus*. Ни у одного из исследованных львов не был выявлен FeLV, хотя одно больное животное оказалось серопозитивным в отношении данного вируса, т. е. имело специфические антитела к антигенам вируса. Результаты подобных работ подтверждают факт недостаточности изучения в настоящее время механизмов патогенеза, процессов малигнизации у инфицированных животных, а также обоснованность мнения о том, что инициировавший канцерогенез (лейкозогенез) вирус в дальней-

шем может не детектироваться применяемыми методами диагностики. Как минимум это свидетельствует в пользу необходимости сочетания на этапах диагностики вирусной лейкемии кошачьих иммунохимических и молекулярно-генетических методов анализа для выявления как факта вирусспецифической сероконверсии, так и репликативной и экспрессионной активности вирусного генома.

Вирус лейкемии кошек является специфичным для представителей семейства *Felidae* и не заражает других животных, в частности, не передается ни человеку, ни собакам, с которыми домашние кошки имеют частый и длительный контакт [11, 20, 21].

Механизмы развития патологических состояний, ассоциированных с лейкемией кошачьих, в настоящее время изучены недостаточно. Развитие лейкемии и лимфом (или лимфосарком) считается конечной стадией лейкемии кошачьих. Причем для перехода заболевания в лейкемическую форму может быть не обязательным присутствие вирусспецифических антигенов [27]. Выявление FeLV-инфицированных кошек, серонегативных по вирусспецифическим антигенам, указывает на то, что вирус может реализовывать свой лейкозогенный потенциал не только за счет экспрессии генетического материала провируса FeLV на уровне транскрипции, но и вследствие вариаций процессов интеграции провирусного генома в различные сайты генома клеток хозяина, индукции хромосомных перестроек, активации с-онкогенов и других вариантов повреждения генома клеток хозяина [28].

Выделяют шесть основных этапов развития FeLV-инфекции [29]:

1. Инвазия вируса в организм кошки происходит перорально или парентеральным путем (обычно вследствие укусов и других типов раневых повреждений наружных кожных покровов, а также в результате «дружественных» контактов: взаимном вылизывании, пользовании одной миской и т. п.). При попадании вируса в глотку происходит первичное заражение эпителиальных клеток и лейкоцитов (в основном тонзиллярных В-лимфоцитов и макрофагов). Инфицированные лейкоциты могут рециркулировать, однако в большинстве случаев задерживаются в ближайших регионарных лимфатических узлах, где и происходит активная репликация вируса.

2. Образованное *de novo* вирусное потомство попадает в системную циркуляцию (в кровь и лимфу), т. е. происходит диссеминация инфекционных агентов по всему телу. Поскольку, подобно другим ретровирусам, FeLV имеет цитолитический потенциал, вирус высвобождается из инфицированных клеток путем их лизиса. Происходит истощение пула лимфоцитарных клеток и моноцитов, что приводит к выраженной иммунологической компрометации организма.

3. Увеличивается масштаб заражения клеток периферических лимфоидных образований и циркулирующих лимфоцитов. Для этой стадии инфекционного процесса характерна активная продукция анти-FeLV антител, что делает возможным мониторинг динамики развития заболевания, а также оценку эффективности проводимой терапии.

4. Развивается выраженная виремия. К процессу тотального заражения гемолимфатической системы присоединяется инфицирование клеток эпителия кишечника.

5. Заболевание переходит в лейкемическую стадию, характеризующуюся инфицированием клеток костного мозга и злокачественной трансформацией костномозговых клеток-предшественников. В этой стадии спонтанная эрадикация вируса практически невозможна, и заболевание приобретает фатальный характер. Вирус активно реплицируется во всех лейкоцитарных клетках, образующихся в костном мозге (в лимфоцитах, нейтрофилах, моноцитах, эозинофилах). Итогом этого является масштабная и глубокая иммунологическая компрометация, которая приводит к развитию разнообразных вторичных инфекционных процессов и все более усугубляющейся полиорганной недостаточности.

6. Наступает терминальная стадия (бластный криз). В этой стадии могут быть инфицированы клетки практически всех органов и тканей больного животного. В наибольшей степени поражения затрагивают ткани слизистых оболочек и железистого эпителия, где наиболее интенсивны метаболическая и пролиферативная активности клеток. Вирус активно реплицируется в эпителиальных тканях полости рта и глотки, носа, в слюнных железах, слизистой желудка и кишечника, клетках трахеи, почечных канальцев, мочевого пузыря, поджелудочной железы, сальных желез. Терминальная стадия считается практически инкурабельным этапом заболевания.

Возможна вертикальная передача вируса от беременной самки котят, в этом случае они сразу попадают на вторую стадию инфекции. Вероятность заражения новорожденных котят зависит от вирусной нагрузки в организме матери в период беременности.

Неонкологические патологии, ассоциированные с лейкемией кошачьих, определяются воздействием вируса на систему иммунитета. Помимо системных поражений крови (анемии и лейкопении) инфекция может вызывать у кошек разнообразные органые поражения, например миокардит. Клинические признаки поражений, развивающихся в организме инфицированных кошек, очень вариабельны: потеря аппетита, нарушения состояния кожи и шерстного покрова, затяжные и рецидивирующие бактериальные, грибковые, вирусные инфекции кожи и других тканей, поражения глаз, отиты, воспалительные поражения мочевого пузыря и дыхательных путей, лимфаденопатия, повышенная утомляемость, лихорадка, потеря веса, стоматит, гингивит, изменения в поведении, диарея, желтуха, иммунодефицитные состояния различного типа, лейкемические проявления, развитие лимфом тимуса и другие проявления в виде лимфом и сарком различной локализации [30–32].

В ряде случаев возможно и длительное течение бессимптомной латентной инфекции, когда животные – носители вируса не проявляют признаков заболевания в течение многих лет [31]. Является ли это следствием исключительно особой природы вируса или же это результат более эффективного функционирования механизмов иммунологического противовирусного и противоопухолевого надзора? Ответы на эти вопросы имеют очевидное фундаментальное и чрезвычайно важное практическое значение.

Очень интересные некоторые сообщения (однако недостаточно верифицированные) о том, что организм некоторых инфицированных кошек может эффективно бороться с вирусом, приобретая стойкий иммунитет и становясь полностью устойчивым к ассоциирован-

ным с ним заболеваниям. Однако полной эрадикации вируса при этом не происходит, и такие «здоровые» носители патогена могут при контакте заражать других кошек, способствуя таким образом распространению возбудителя в популяции [33, 34]. Тем не менее представленные выше данные об исключительном полиморфизме клинического течения лейкемии кошек и, в частности, о вариабельности течения лейкозного процесса позволяют предположить перспективность изучения особенностей иммунологических механизмов, участия системы интерферона и других факторов противовирусного и противоопухолевого врожденного иммунитета с целью разработки средств и технологий повышения эффективности лечения как минимум этих форм гемобластозов кошек.

Лечение лейкемии кошек представляет собой сложную задачу. Во-первых, в связи с ретровирусной природой инфекции (что подразумевает встраивание провируса в хромосому клетки-хозяина), во-вторых – с неспецифичностью симптомов и поражением многих органов и систем, которое на поздних стадиях приводит к развитию полиорганной недостаточности. По этой причине в настоящее время не существует единой действенной схемы лечения лейкемии у кошачьих. Оно включает в себя симптоматическую терапию, направленную, с одной стороны, на поддержание функционирования сердечно-сосудистой системы, почек, печени и других жизненно важных органов, с другой – на купирование вторичных инфекций, развивающихся на фоне иммунодефицита.

Наибольшую эффективность и меньшее количество побочных эффектов имели препараты с иммуномодулирующим действием, что выражалось в улучшении общего состояния больных животных и снижении их смертности [18]. Однако данное лечение не позволяет добиться выздоровления и полной эрадикации вируса. Другой эффективной схемой лечения является использование химиотерапии, основанной на сочетании винкристина, циклофосфида и преднизолона, а также схемы химиотерапии с применением L-аспарагиназы и доксорубина. Химиотерапия позволяет добиться ремиссии, однако она не превышает 10 мес. Кроме того, данная терапия сопряжена с развитием большого количества побочных эффектов, что не позволяет применять ее у животных с печеночной или почечной недостаточностью [35].

Вакцинопрофилактика была впервые предложена еще в начале XXI века, однако до сих пор не удалось разработать высокоэффективный препарат. В настоящее время существует несколько поливалентных вакцин – как адъювантные (например, Nobivac Feline 2-FeLV, Merck & Co., Inc., США), так и векторные безадъювантные, но ни одна из них не обеспечивает надежной защиты от вируса лейкемии кошачьих.

Наиболее популярным вакцинным препаратом против FeLV-инфекции в настоящее время является безадъювантная вакцина Purevax FeLV (синоним – Eurifel FeLV), производимая компаниями Merial (Франция) и Biokema S. A. (Швейцария). Это рекомбинантная ДНК-вакцина, в которой в качестве генетического вектора используется вирус оспы канареек (CNPV – *Canarypox virus*; *Chitovirales: Poxviridae, Avipoxvirus*), в геном которого интегрированы два гена FeLV – *gag* и *env*. Препарат представляет собой живую цельновирионную конструкцию, которая не реплицируется

в клетках кошек. Эта вакцина является наиболее предпочтительной, так как практически не имеет побочных эффектов [5, 36, 37].

Влияние лейкемии на популяции особо охраняемых диких кошачьих определяется малочисленностью последних и потому повышенной уязвимостью со стороны инфекционных агентов, особенно способных циркулировать в латентной форме.

Сохранение и репродукция редких и исчезающих видов крупных хищников, находящихся на вершине пищевой пирамиды, является важной задачей, необходимой для поддержания биоразнообразия планеты. Наибольшее разнообразие диких крупных кошек наблюдается на российском Дальнем Востоке, где обитают амурский тигр и дальневосточный леопард, популяции которых хотя и существенно увеличились за последние два десятилетия благодаря охранным мероприятиям, но по-прежнему нуждаются в комплексной охране. Существенное влияние на численность популяций крупных диких кошачьих оказывает ряд экологических и биологических факторов: климатические изменения, антропогенное воздействие, доступность кормовой базы (олений и кабанов) [38–40]. Инфекционные заболевания могут значительно сокращать численность популяций, вызывая массовую гибель особей, оказывать влияние на выживаемость и размножение животных. Даже незначительное снижение выживаемости может быть критично для медленно размножающихся и малочисленных видов кошачьих, таких как амурский тигр и дальневосточный леопард. Однако сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях этих животных скудны [8, 41–45]. Малочисленность эпизоотологических данных не позволяет в полной мере оценить влияние инфекционных заболеваний на популяцию редких видов кошачьих, а клиническая картина, описанная на примере единичных случаев, не дает возможности определить патогенез инфекций у крупных кошачьих в дикой природе [41, 46].

Описаны случаи выявления FeLV у крупных кошек, содержащихся в зоопарках. Чаще всего инфекция имеет латентное течение, и у животных отсутствуют какие-либо клинические симптомы [47–49]. В некоторых случаях у тигров развиваются вторичные инфекции и поражения органов, ассоциированные с заражением FeLV. Так, у бенгальского тигра в Мексике вследствие инфицирования вирусом лейкемии кошек, который привел к летальному исходу, развился амилоидоз [50]. Так же, как и у домашних кошек, у диких кошачьих заражение FeLV проявляется клинической картиной острого лейкоза и приводит к развитию иммунодефицита и появлению вторичных инфекций [51, 52].

На данный момент не существует единых протоколов диагностики, лечения и вакцинопрофилактики лейкемии у крупных кошачьих [47]. В связи с тем, что и дикие, и домашние кошки подвержены заражению FeLV, у них имеется сходство в патогенезе и клинике течения лейкемии, что позволяет использовать зараженных домашних кошек в качестве модели для разработки методов лечения и вакцинопрофилактики лейкоза кошачьих [6, 44, 53], а также интегрировать полученные результаты в ветеринарную практику в работе с крупными видами кошек сначала в условиях зоопарков, а затем уже и с дикими кошачьими.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Лейкемия кошачьих, несмотря на накопленный массив данных, и по сей день остается серьезной и нерешенной проблемой не только для специалистов ветеринарной практики, но также и для экологов, зоологов и вирусологов, чья область исследования так или иначе связана с этим семейством животных, изучением ретровирусов и сохранением биоразнообразия на планете. Необходимы дальнейшие прикладные и фундаментальные исследования и их верификация в области изучения вируса лейкемии кошачьих, лечения и профилактики лейкоза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hotta T. Clonality in hematopoietic disorders. *Int. J. Hematol.* 1997; 66 (4): 403–412. DOI: 10.1016/s0925-5710(97)00092-3.
- Смирнова С. Ю., Сидорова Ю. В., Рыжикова Н. В., Сычевская К. А., Паровичникова Е. Н., Судариков А. Б. Эволюция опухолевых клонов при остром лимфобластном лейкозе взрослых. *Acta Naturae.* 2016; 8 (4): 100–109. DOI: 10.32607/20758251-2016-8-4-100-109.
- Roug I. K., McCartney L. B. Metastatic non-Hodgkin lymphoma presenting as low back pain and radiculopathy: a case report. *J. Chiropr. Med.* 2012; 11 (3): 202–206. DOI: 10.1016/j.jcm.2012.05.008.
- Москвина Т. В., Щелканов М. Ю., Цыбульский А. В. FeLV-инфекция: проблемы и перспективы вакцинопрофилактики и интерферонотерапии лейкоза кошек. *Инфекция и иммунитет.* 2021; 11 (4): 624–634. DOI: 10.15789/2220-7619-FPA-882.
- Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д. К. Львова. М.: Медицинское информационное агентство; 2013; 1200 с.
- Tsybulsky A., Tabakaeva T., Klimovich A., Shchelkanov M., Kostetsky E., Aliev M., Degtyarenko A. Interferon status and expression of p53 and gadd45g genes in leukaemogenic FeLV infection in domestic cats. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 2022; 10 (3): 565–572. DOI: 10.17582/journal.aavs/2022/10.3.565.572.
- Щелканов М. Ю., Ярыгина М. В., Галкина И. В., Кики П. Ф. Диалектический подход к биомедицинской этике как основа ее имплементации в современных социокультурных условиях. *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины.* 2019; 27 (4): 414–417. DOI: 10.32687/0869-866X-2019-27-4-414-417.
- Щелканов М. Ю., Галкина И. В., Арамилов С. В., Суворов А. Л., Фоменко П. В., Журавлёв Ю. Н. Дальневосточный банк биологических материалов от крупных кошачьих (*Pantherinae*) как инструмент совершенствования практики применения статей 226.1 и 258.1 Уголовного Кодекса Российской Федерации. *Всероссийский криминологический журнал.* 2017; 11 (1): 146–153. DOI: 10.17150/2500-4255.2017.11(1).146-153.
- Szilas A., Dénes L., Balka G. Feline leukemia virus (FeLV): literature review. *Magyar Állatorvosok Lapja.* 2018; 140 (8): 457–472.
- Weiss A. T., Klopfeisch R., Gruber A. D. Prevalence of feline leukemia provirus DNA in feline lymphomas. *J. Feline Med. Surg.* 2010; 12 (12): 929–935. DOI: 10.1016/j.jfms.2010.07.006.
- Brown M. A., Cunningham M. W., Roca A. L., Troyer J. L., Johnson W. E., O'Brien S. J. Genetic characterization of feline leukemia virus from Florida panthers. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14 (2): 252–259. DOI: 10.3201/eid1402.070981.
- Filoni C., Helfer-Hungerbuehler A. K., Catão-Dias J. L., Marques M. C., Torres L. N., Reinacher M., Hofmann-Lehmann R. Putative progressive and abortive feline leukemia virus infection outcomes in captive jaguarundi (*Puma yagouaroundi*). *Viral. J.* 2017; 14 (1): 226. DOI: 10.1186/s12985-017-0889-z.
- Shchelkanov M. Yu., Soinov L. A., Zalunin V. V., Gumennyi D. A., Yudin A. N., Natan A. A., et al. One-parameter discrete model of the genetic diversity. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1998; 15 (5): 887–894. DOI: 10.1080/07391102.1998.10508210.
- Shchelkanov M. Yu., Yudin A. N., Antonov A. V., Soinov L. A., Zalunin V. V., Vedenov A. A., Karamov E. V. Variability analysis of HIV-1 gp120 V3 region: II. Hierarchy of taxons. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1997; 15 (2): 231–241. DOI: 10.1080/07391102.1997.10508188.
- Harrison T. M., McKnight C. A., Sikarskie J. G., Kitchell B. E., Garner M. M., Raymond J. T., et al. Malignant lymphoma in african lions (*Panthera leo*). *Vet. Pathol.* 2010; 47 (5): 952–957. DOI: 10.1177/0300985810375054.
- Shchelkanov M. Yu., Soinov L. A., Yudin A. N., Denisov M. V., Slavsky A. A., Petrenko M. S., Vedenov A. A. Stochastic properties of one-parameter discrete model of genetic diversity in the unique random parameter case. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1999; 17 (3): 597–605. DOI: 10.1080/07391102.1999.10508389.

17. Bolin L. L., Levy L. S. Viral determinants of FeLV infection and pathogenesis: lessons learned from analysis of a natural cohort. *Viruses*. 2011; 3 (9): 1681–1698. DOI: 10.3390/v3091681.
18. Anderson M. M., Lauring A. S., Robertson S., Dirks C., Overbaugh J. Feline Pit2 functions as a receptor for subgroup B feline leukemia viruses. *J. Virol.* 2001; 75 (22): 10563–10572. DOI: 10.1128/JVI.75.22.10563-10572.2001.
19. Mendoza R., Anderson M. M., Overbaugh J. A putative thiamine transport protein is a receptor for feline leukemia virus subgroup A. *J. Virol.* 2006; 80 (7): 3378–3385. DOI: 10.1128/JVI.80.7.3378-3385.2006.
20. Phipps A. J., Chen H., Hayes K. A., Roy-Burman P., Mathes L. E. Differential pathogenicity of two feline leukemia virus subgroup A molecular clones, pFRA and pF6A. *J. Virol.* 2000; 74 (13): 5796–5801. DOI: 10.1128/jvi.74.13.5796-5801.2000.
21. Vobis M., D'Haese J., Mehlhorn H., Mencke N. Evidence of horizontal transmission of feline leukemia virus by the cat flea (*Ctenocephalides felis*). *Parasitol. Res.* 2003; 91 (6): 467–470. DOI: 10.1007/s00436-003-0949-8.
22. Cunningham M. W., Brown M. A., Shindle D. B., Terrell S. P., Hayes K. A., Ferree B. C., et al. Epizootiology and management of feline leukemia virus in the Florida puma. *J. Wildl. Dis.* 2008; 44 (3): 537–552. DOI: 10.7589/0090-3558-44.3.537.
23. Guimaraes A. M., Brandão P. E., de Moraes W., Cubas Z. S., Santos L. C., Villarreal L. Y., et al. Survey of feline leukemia virus and feline coronaviruses in captive neotropical wild felids from Southern Brazil. *J. Zoo Wildl. Med.* 2009; 40 (2): 360–364. DOI: 10.1638/2008-0067.1.
24. Sleeman J. M., Keane J. M., Johnson J. S., Brown R. J., Woude S. V. Feline leukemia virus in a captive bobcat. *J. Wildl. Dis.* 2001; 37 (1): 194–200. DOI: 10.7589/0090-3558-37.1.194.
25. Leutenegger C. M., Hofmann-Lehmann R., Riols C., Liberek M., Worel G., Lups P., et al. Viral infections in free-living populations of the European wildcat. *J. Wildl. Dis.* 1999; 35 (4): 678–686. DOI: 10.7589/0090-3558-35.4.678.
26. Tangsudjai S., Malidang S., Phonarknguen R., Boonyarittichai R., Pattanarangsarn R., Buddhironkawatr R., Chaichoun K. Feline leukemia virus (FeLV) in captive wild felids in Thailand during 2004–2005. *J. Appl. Anim. Sci.* 2010; 3 (1–3): 25–31.
27. Moskvina T., Klimovich A., Stenkova A., Tsybulsky A., Tabakaev A., Shchelkanov M. The prevalence of FeLV and FIV infection in cats and hematological changes and clinical signs in FeLV/FIV infected cats from Vladivostok, Russia. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 2019; 7 (7): 570–573. DOI: 10.17582/journal.aavs/2019/7.7.570.573.
28. Weiss R. A. The discovery of endogenous retroviruses. *Retrovirology*. 2006; 3:67. DOI: 10.1186/1742-4690-3-67.
29. Levy J. K., Burling A. Feline leukemia virus and related diseases in cats – overview. *Generalized Conditions. MSD Veterinary Manual*. 2018; 9 p.
30. Hisasue M., Nagashima N., Nishigaki K., Fukuzawa I., Ura S., Katae H., et al. Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia in cats infected with feline leukemia virus clone33 containing a unique long terminal repeat. *Int. J. Cancer*. 2009; 124 (5): 1133–1141. DOI: 10.1002/ijc.24050.
31. Marker L., Munson L., Basson P. A., Quackenbush S. Multicentric T-cell lymphoma associated with feline leukemia virus infection in a captive Namibian cheetah (*Acinonyx jubatus*). *J. Wildl. Dis.* 2003; 39 (3): 690–695. DOI: 10.7589/0090-3558-39.3.690.
32. Neil J. C., Fulton R., Rigby M., Stewart M. Feline leukaemia virus: generation of pathogenic and oncogenic variants. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1991; 171: 67–93. DOI: 10.1007/978-3-642-76524-7_4.
33. Jarrett O. Pathogenicity of feline leukemia virus is commonly associated with variant viruses. *Leukemia*. 1992; 6 (Suppl 3): 153S–154S. PMID: 1318467.
34. Rojko J. L., Kociba G. J. Pathogenesis of infection by the feline leukemia virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1991; 199 (10): 1305–1310. PMID: 1666072.
35. Hartmann K. Efficacy of antiviral chemotherapy for retrovirus-infected cats: What does the current literature tell us? *J. Feline. Med. Surg.* 2015; 17 (11): 925–939. DOI: 10.1177/1098612X15610676.
36. Patel M., Carritt K., Lane J., Jayappa H., Stahl M., Bourgeois M. Comparative efficacy of feline leukemia virus (FeLV) inactivated whole-virus vaccine and canarypox virus-vectored vaccine during virulent FeLV challenge and immunosuppression. *Clin. Vaccine Immunol.* 2015; 22 (7): 798–805. DOI: 10.1128/CVI.00034-15.
37. Wardley R. C., Berlinski P. J., Thomsen D. R., Meyer A. L., Post L. E. The use of feline herpesvirus and baculovirus as vaccine vectors for the gag and env genes of feline leukaemia virus. *J. Gen. Virol.* 1992; 73 (7): 1811–1818. DOI: 10.1099/0022-1317-73-7-1811.
38. Пикунов Д. Г., Микелл Д. Г., Абрамов В. К., Николаев И. Г., Середкин И. В., Мурзин А. А., Коркишко В. Г. Результаты исследования популяций дальневосточного леопарда (*Panthera pardus orientalis*) и амурского тигра (*Panthera tigris altaica*) на юго-западе Приморского края, Дальний Восток России (февраль 2003 года). Владивосток; 2003. 66 с. Режим доступа: https://www.save-leopard.ru/_ld/0/61_7-download.pdf.
39. Серёдкин И. В., Гудрич Д. М., Льюис Д., Микелл Д. Г., Есаулова Н. В., Коняев С. В. и др. Инфекционные и эндопаразитарные заболевания амурского тигра. *Вестник КрасГАУ*. 2015; 12: 185–191. eLIBRARY ID: 25054295.
40. Gilbert M., Miquelle D. G., Goodrich J. M., Reeve R., Cleaveland S., Matthews L., Joly D. O. Estimating the potential impact of canine distemper virus on the Amur tiger population (*Panthera tigris altaica*) in Russia. *PLoS One*. 2014; 9 (10): e110811. DOI: 10.1371/journal.pone.0110811.
41. Любченко Е. Н., Короткова И. П., Иванчук Г. В., Кухаренко Н. С. Патоморфологические изменения в органах при алиментарной дистрофии диких кошачьих Дальнего Востока. *Дальневосточный аграрный вестник*. 2019; 1 (49): 66–72. DOI: 10.24411/1999-6837-2019-11010.
42. Jung I., Kim Y. S., Jee H., Sohn S. Y., Yoo H. S., Kim D. Y., et al. Feline panleukopenia virus infection in a Siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). *J. Vet. Clin.* 2009; 26 (5): 504–507.
43. Lewis J., Tomlinson A., Gilbert M., Alshinetski M., Arzhanova T., Goncharuk M., et al. Assessing the health risks of reintroduction: The example of the Amur leopard, *Panthera pardus orientalis*. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67 (3): 1177–1188. DOI: 10.1111/tbed.13449.
44. Moskvina T. V., Shchelkanov M. Yu., Begun M. A. Endoparasites of the Siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). *Integrative Zoology*. 2018; 13 (5): 507–516. DOI: 10.1111/1749-4877.12342.
45. Voronova A. N., Vainutis K. S., Tabakaeva T. V., Sapotsky M. V., Kakareka N. N., Volkov Y. G., et al. Molecular identification of the trematode *P. ichunensis* stat. n. from lungs of siberian tigers justified reappraisal of *Paragonimus westermani* species complex. *J. Parasit. Dis.* 2022; 46 (3): 744–753. DOI: 10.1007/s12639-022-01481-7.
46. Любченко Е. Н., Короткова И. П., Фоменко П. В. Лимфома амурского тигра. *Актуальные вопросы и инновационные технологии в ветеринарной медицине, животноводстве и природоохранном комплексе: материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 40-летию со дня образования ветеринарного факультета (6–8 ноября 2019 г.)*. Ч. 1. Уссурийск: ФГБОУ ВО Приморская ГСХА; 2019; 177–180. eLIBRARY ID: 42374757.
47. Reyes M. F., Barrios E. R., Favila M. J. B., Moralde K. I. A., Flores M. L. S. Prevalence of feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus and *Toxoplasma gondii* in captive tigers (*Panthera tigris*) in a wildlife facility in the Philippines. *Philipp. J. Vet. Anim. Sci.* 2017; 43 (1): 38–43.
48. Huang S., Li X., Guo L., You D., Xie W., Xu H., et al. Prevalence of four viruses in captive Siberian tigers from Northeastern China. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69 (5): e1434–e1444. DOI: 10.1111/tbed.14475.
49. Liu E., Ma L., Huang S., You D., Guo L., Li X., et al. The first feline immunodeficiency virus from Siberian tigers (*Panthera tigris altaica*) in Northeastern China. *Arch. Virol.* 2022; 167 (2): 545–551. DOI: 10.1007/s00705-022-05370-5.
50. De la Cruz-Hernández N. I., Merino-Charres J. O., Salinas-Navarrete E. M., Monreal García A. E., Martínez Burnes J., Rangel Lucio J. A. R., Venegas-Barrera C. Amyloidosis associated with feline leukemia virus in a white bengal tiger (*Panthera tigris tigris*). *Thai. J. Vet. Med.* 2016; 46 (4): 679–683.
51. Rolim V. M., Casagrande R. A., Wouters A. T., Driemeier D., Pavarni S. P. Myocarditis caused by feline immunodeficiency virus in five cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Comp. Pathol.* 2016; 154 (1): 3–8. DOI: 10.1016/j.jcpa.2015.10.180.
52. Keller D. L., Steinberg H., Sladky K. K. Disseminated histoplasmosis in a Bengal tiger (*Panthera tigris*). *J. Zoo. Wildl. Med.* 2011; 42 (4): 727–731. DOI: 10.1638/2010-0206.1.
53. Tabakaeva T. V., Klimovich A. A., Tsybulsky A. V., Tabakaev A. V., Shchelkanov M. Yu. Retroviral infections of cats in Vladivostok, Russia. *The 2nd International Conference on Northeast Asia Biodiversity (August 27–31, 2019): Abstract Gather*. Baishan, China; 2019; 30. Режим доступа: <https://www.biosoil.ru/files/publications/00018494.pdf>.

REFERENCES

1. Hotta T. Clonality in hematopoietic disorders. *Int. J. Hematol.* 1997; 66 (4): 403–412. DOI: 10.1016/s0925-5710(97)00092-3.
2. Smirnova S. Yu., Sidorova Yu. V., Ryzhikova N. V., Sychevskaya K. A., Parovichnikova E. N., Sudarikov A. B. Evolution of tumor clones in adult acute lymphoblastic leukemia. *Acta Naturae*. 2016; 8 (4): 100–109. DOI: 10.32607/20758251-2016-8-4-100-109.
3. Roug I. K., McCartney L. B. Metastatic non-Hodgkin lymphoma presenting as low back pain and radiculopathy: a case report. *J. Chiropr. Med.* 2012; 11 (3): 202–206. DOI: 10.1016/j.jcm.2012.05.008.
4. Moskvina T. V., Shchelkanov M. Yu., Tsybulsky A. V. FeLV-infection: problems and prospects of vaccine prevention and interferon-therapy of feline leukemia. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021; 11 (4): 624–634. DOI: 10.15789/2220-7619-FPA-882. (in Russ.)
5. Guidance on Virology. Human and Animal Viruses and Viral Infections. Ed. by D. K. Lvov. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2013; 1200 p. (in Russ.)

6. Tsybulsky A., Tabakaeva T., Klimovich A., Shchelkanov M., Kostetsky E., Aliev M., Degtyarenko A. Interferon status and expression of *p53* and *gag-d45g* genes in leukaemogenic FeLV infection in domestic cats. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 2022; 10 (3): 565–572. DOI: 10.17582/journal.aavs/2022/10.3.565.572.
7. Shchelkanov M. Yu., Yarygina M. V., Galkina I. V., Kiku P. F. The dialectic approach to biomedical ethics as a foundation of its implementation in actual social cultural traditions. *Problems of Social Hygiene, Public Health and History of Medicine*. 2019; 27 (4): 414–417. DOI: 10.32687/0869-866X-2019-27-4-414-417. (in Russ.)
8. Shchelkanov M. Yu., Galkina I. V., Aramilev S. A., Surovyi A. L., Fomenko P. V., Zhuravlev Yu. N. Far Eastern bank of biological materials from big cats (*Pantherinae*) as an improvement tool of the practice of enforcement of Articles 226.1 and 258.1 of the Criminal Code of the Russian Federation. *Russian Journal of Criminology*. 2017; 11 (1): 146–153. DOI: 10.17150/2500-4255.2017.11(1).146-153. (in Russ.)
9. Szilasi A., Dénes L., Balka G. Feline leukemia virus (FeLV): literature review. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 2018; 140 (8): 457–472. (in Hungarian)
10. Weiss A. T., Klopfeisch R., Gruber A. D. Prevalence of feline leukemia provirus DNA in feline lymphomas. *J. Feline Med. Surg.* 2010; 12 (12): 929–935. DOI: 10.1016/j.jfms.2010.07.006.
11. Brown M. A., Cunningham M. W., Roca A. L., Troyer J. L., Johnson W. E., O'Brien S. J. Genetic characterization of feline leukemia virus from Florida panthers. *Emerg. Infect. Dis.* 2008; 14 (2): 252–259. DOI: 10.3201/eid1402.070981.
12. Filoni C., Helfer-Hungerbuehler A. K., Catão-Dias J. L., Marques M. C., Torres L. N., Reinacher M., Hofmann-Lehmann R. Putative progressive and abortive feline leukemia virus infection outcomes in captive jaguarundis (*Puma yagouaroundi*). *Virol. J.* 2017; 14 (1): 226. DOI: 10.1186/s12985-017-0889-z.
13. Shchelkanov M. Yu., Soinov L. A., Zalunin V. V., Gumennyi D. A., Yudin A. N., Natan A. A., et al. One-parameter discrete model of the genetic diversity. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1998; 15 (5): 887–894. DOI: 10.1080/07391102.1998.10508210.
14. Shchelkanov M. Yu., Yudin A. N., Antonov A. V., Soinov L. A., Zalunin V. V., Vedenov A. A., Karamov E. V. Variability analysis of HIV-1 gp120 V3 region: II. Hierarchy of taxons. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1997; 15 (2): 231–241. DOI: 10.1080/07391102.1997.10508188.
15. Harrison T. M., McKnight C. A., Sikarskie J. G., Kitchell B. E., Garner M. M., Raymond J. T., et al. Malignant lymphoma in African lions (*Panthera leo*). *Vet. Pathol.* 2010; 47 (5): 952–957. DOI: 10.1177/0300985810375054.
16. Shchelkanov M. Yu., Soinov L. A., Yudin A. N., Denisov M. V., Slavsky A. A., Petrenko M. S., Vedenov A. A. Stochastic properties of one-parameter discrete model of genetic diversity in the unique random parameter case. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 1999; 17 (3): 597–605. DOI: 10.1080/07391102.1999.10508389.
17. Bolin L. L., Levy L. S. Viral determinants of FeLV infection and pathogenesis: lessons learned from analysis of a natural cohort. *Viruses*. 2011; 3 (9): 1681–1698. DOI: 10.3390/v3091681.
18. Anderson M. M., Luring A. S., Robertson S., Dirks C., Overbaugh J. Feline Pit2 functions as a receptor for subgroup B feline leukemia viruses. *J. Virol.* 2001; 75 (22): 10563–10572. DOI: 10.1128/JVI.75.22.10563-10572.2001.
19. Mendoza R., Anderson M. M., Overbaugh J. A putative thiamine transport protein is a receptor for feline leukemia virus subgroup A. *J. Virol.* 2006; 80 (7): 3378–3385. DOI: 10.1128/JVI.80.7.3378-3385.2006.
20. Phipps A. J., Chen H., Hayes K. A., Roy-Burman P., Mathes L. E. Differential pathogenicity of two feline leukemia virus subgroup A molecular clones, pFRA and pF6A. *J. Virol.* 2000; 74 (13): 5796–5801. DOI: 10.1128/jvi.74.13.5796-5801.2000.
21. Vobis M., D'Haese J., Mehlhorn H., Mencke N. Evidence of horizontal transmission of feline leukemia virus by the cat flea (*Ctenocephalides felis*). *Parasitol. Res.* 2003; 91 (6): 467–470. DOI: 10.1007/s00436-003-0949-8.
22. Cunningham M. W., Brown M. A., Shindle D. B., Terrell S. P., Hayes K. A., Ferree B. C., et al. Epizootiology and management of feline leukemia virus in the Florida puma. *J. Wildl. Dis.* 2008; 44 (3): 537–552. DOI: 10.7589/0090-3558-44.3.537.
23. Guimaraes A. M., Brandão P. E., de Moraes W., Cubas Z. S., Santos L. C., Villarreal L. Y., et al. Survey of feline leukemia virus and feline coronaviruses in captive neotropical wild felids from Southern Brazil. *J. Zoo Wildl. Med.* 2009; 40 (2): 360–364. DOI: 10.1638/2008-0067.1.
24. Sleeman J. M., Keane J. M., Johnson J. S., Brown R. J., Woude S. V. Feline leukemia virus in a captive bobcat. *J. Wildl. Dis.* 2001; 37 (1): 194–200. DOI: 10.7589/0090-3558-37.1.194.
25. Leutenegger C. M., Hofmann-Lehmann R., Riols C., Liberek M., Worel G., Lups P., et al. Viral infections in free-living populations of the European wildcat. *J. Wildl. Dis.* 1999; 35 (4): 678–686. DOI: 10.7589/0090-3558-35.4.678.
26. Tangsudjai S., Malidang S., Phonarknuegn R., Boonyarittichakit R., Pattanarangsarn R., Buddhirongawatr R., Chaichoun K. Feline leukemia virus (FeLV) in captive wild felids in Thailand during 2004–2005. *J. Appl. Anim. Sci.* 2010; 3 (1–3): 25–31.
27. Moskvina T., Klimovich A., Stenkova A., Tsybulsky A., Tabakaev A., Shchelkanov M. The prevalence of FeLV and FIV infection in cats and hematological changes and clinical signs in FeLV/FIV infected cats from Vladivostok, Russia. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 2019; 7 (7): 570–573. DOI: 10.17582/journal.aavs/2019/7.7.570.573.
28. Weiss R. A. The discovery of endogenous retroviruses. *Retrovirology*. 2006; 3: 67. DOI: 10.1186/1742-4690-3-67.
29. Levy J. K., Burling A. Feline leukemia virus and related diseases in cats – overview. *Generalized Conditions. MSD Veterinary Manual*. 2018; 9 p.
30. Hisasue M., Nagashima N., Nishigaki K., Fukuzawa I., Ura S., Katae H., et al. Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia in cats infected with feline leukemia virus clone33 containing a unique long terminal repeat. *Int. J. Cancer*. 2009; 124 (5): 1133–1141. DOI: 10.1002/ijc.24050.
31. Marker L., Munson L., Basson P. A., Quackenbush S. Multicentric T-cell lymphoma associated with feline leukemia virus infection in a captive Namibian cheetah (*Acinonyx jubatus*). *J. Wildl. Dis.* 2003; 39 (3): 690–695. DOI: 10.7589/0090-3558-39.3.690.
32. Neil J. C., Fulton R., Rigby M., Stewart M. Feline leukaemia virus: generation of pathogenic and oncogenic variants. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 1991; 171: 67–93. DOI: 10.1007/978-3-642-76524-7_4.
33. Jarrett O. Pathogenicity of feline leukemia virus is commonly associated with variant viruses. *Leukemia*. 1992; 6 (Suppl 3): 1535–1545. PMID: 1318467.
34. Rojko J. L., Kociba G. J. Pathogenesis of infection by the feline leukemia virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1991; 199 (10): 1305–1310. PMID: 1666072.
35. Hartmann K. Efficacy of antiviral chemotherapy for retrovirus-infected cats: What does the current literature tell us? *J. Feline Med. Surg.* 2015; 17 (11): 925–939. DOI: 10.1177/1098612X15610676.
36. Patel M., Carritt K., Lane J., Jayappa H., Stahl M., Bourgeois M. Comparative efficacy of feline leukemia virus (FeLV) inactivated whole-virus vaccine and canarypox virus-vectored vaccine during virulent FeLV challenge and immunosuppression. *Clin. Vaccine Immunol.* 2015; 22 (7): 798–805. DOI: 10.1128/CVI.00034-15.
37. Wardley R. C., Berlinski P. J., Thomsen D. R., Meyer A. L., Post L. E. The use of feline herpesvirus and baculovirus as vaccine vectors for the *gag* and *env* genes of feline leukaemia virus. *J. Gen. Virol.* 1992; 73 (7): 1811–1818. DOI: 10.1099/0022-1317-73-7-1811.
38. Pikunov D. G., Miquelle D. G., Abramov V. K., Nikolaev I. G., Seredkin I. V., Murzin A. A., Korkishko V. G. A survey of Far Eastern leopard (*Panthera pardus orientalis*) and Amur tiger (*Panthera tigris altaica*) populations in southwest Primorski Krai, Russian Far East (February 2003). Vladivostok; 2003. 66 p. Available at: https://www.save-leopard.ru/_ld/0/61_7-download.pdf. (in Russ.)
39. Seryodkin I. V., Goodrich D. M., Lewis D., Miquelle D. G., Esaulova N. V., Konyaev S. V., et al. Infectious and endoparasitic diseases of the Amur tiger. *Bulletin of KrasGAU*. 2015; 12: 185–191. eLIBRARY ID: 25054295. (in Russ.)
40. Gilbert M., Miquelle D. G., Goodrich J. M., Reeve R., Cleaveland S., Matthews L., Joly D. O. Estimating the potential impact of canine distemper virus on the Amur tiger population (*Panthera tigris altaica*) in Russia. *PLoS One*. 2014; 9 (10): e110811. DOI: 10.1371/journal.pone.0110811.
41. Lyubchenko E. N., Korotkova I. P., Ivanchuk G. B., Kukhareno N. C. Pathomorphological changes in organs under alimentary dystrophy of wild feline of the Far East. *Far Eastern Agrarian Bulletin*. 2019; 1 (49): 66–72. DOI: 10.24411/1999-6837-2019-11010. (in Russ.)
42. Jung I., Kim Y. S., Jee H., Sohn S. Y., Yoo H. S., Kim D. Y., et al. Feline panleukopenia virus infection in a Siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). *J. Vet. Clin.* 2009; 26 (5): 504–507.
43. Lewis J., Tomlinson A., Gilbert M., Alshinetski M., Arzhanova T., Goncharuk M., et al. Assessing the health risks of reintroduction: The example of the Amur leopard, *Panthera pardus orientalis*. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67 (3): 1177–1188. DOI: 10.1111/tbed.13449.
44. Moskvina T. V., Schelkanov M. Yu., Begun M. A. Endoparasites of the Siberian tiger (*Panthera tigris altaica*). *Integrative Zoology*. 2018; 13 (5): 507–516. DOI: 10.1111/1749-4877.12342.
45. Voronova A. N., Vainutis K. S., Tabakaeva T. V., Sapotsky M. V., Kareka N. N., Volkov Y. G., et al. Molecular identification of the trematode *P. ichunensis* stat. n. from lungs of siberian tigers justified reappraisal of *Paragonimus westermani* species complex. *J. Parasit. Dis.* 2022; 46 (3): 744–753. DOI: 10.1007/s12639-022-01481-7.
46. Lyubchenko E. N., Korotkova I. P., Fomenko P. V. Lymphoma of the Amur tigris. *Aktual'nye voprosy i innovatsionnye tekhnologii v veterinarnoi meditsine, zhivotnovodstve i prirodookhrannom komplekse: materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 40-letnemu yubileyu so dnya obrazovaniya veterinarnogo fakul'teta (6–8 noyabrya 2019 g.)*. Ch. 1 = Current aspects and innovative technologies in veterinary

field, animal farming industry and environmental field. *Proceedings of the International Scientific and Practical Conference devoted to the 40th Anniversary of the Veterinary Faculty establishment (November 6–8, 2019). Part 1.* Ussuriysk: FSBEI HE Primorskaya SAA; 2019; 177–180. eLIBRARY ID: 42374757. (in Russ.)

47. Reyes M. F., Barrios E. R., Favila M. J. B., Moralde K. I. A., Flores M. L. S. Prevalence of feline immunodeficiency virus, feline leukemia virus and *Toxoplasma gondii* in captive tigers (*Panthera tigris*) in a wildlife facility in the Philippines. *Philipp. J. Vet. Anim. Sci.* 2017; 43 (1): 38–43.

48. Huang S., Li X., Guo L., You D., Xie W., Xu H., et al. Prevalence of four viruses in captive Siberian tigers from Northeastern China. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69 (5): e1434–e1444. DOI: 10.1111/tbed.14475.

49. Liu E., Ma L., Huang S., You D., Guo L., Li X., et al. The first feline immunodeficiency virus from Siberian tigers (*Panthera tigris altaica*) in Northeastern China. *Arch. Virol.* 2022; 167 (2): 545–551. DOI: 10.1007/s00705-022-05370-5.

50. De la Cruz-Hernández N. I., Merino-Charres J. O., Salinas-Navarrete E. M., Monreal Garcia A. E., Martinez Burnes J., Rangel Lucio J. A. R., Vene-

gas-Barrera C. Amyloidosis associated with feline leukemia virus in a white bengal tiger (*Panthera tigris tigris*). *Thai. J. Vet. Med.* 2016; 46 (4): 679–683.

51. Rolim V. M., Casagrande R. A., Wouters A. T., Driemeier D., Pavari-ni S. P. Myocarditis caused by feline immunodeficiency virus in five cats with hypertrophic cardiomyopathy. *J. Comp. Pathol.* 2016; 154 (1): 3–8. DOI: 10.1016/j.jcpa.2015.10.180.

52. Keller D. L., Steinberg H., Sladky K. K. Disseminated histoplasmosis in a Bengal tiger (*Panthera tigris*). *J. Zoo. Wildl. Med.* 2011; 42 (4): 727–731. DOI: 10.1638/2010-0206.1.

53. Tabakaeva T. V., Klimovich A. A., Tsybulsky A. V., Tabakaev A. V., Shchelkanov M. Yu. Retroviral infections of cats in Vladivostok, Russia. *The 2nd International Conference on Northeast Asia Biodiversity (August 27–31, 2019): Abstract Gather.* Baishan, China; 2019; 30. Available at: <https://www.biosoil.ru/files/publications/00018494.pdf>.

Поступила в редакцию / Received 28.10.2022

Поступила после рецензирования / Revised 07.12.2022

Принята к публикации / Accepted 16.01.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Табакеева Татьяна Владимировна, научный сотрудник лаборатории эктопаразитологии, ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9517-7495>, e-mail: rabchan1992@gmail.com.

Цыбульский Александр Васильевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры биохимии, микробиологии и биотехнологии, Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5408-1454>, e-mail: avt_botech@mail.ru.

Баранчугова Ксения Александровна, аспирант, ветеринарный врач, Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3617-9711>, e-mail: baranchugovaka@dvfu.ru.

Галкина Ирина Вячеславовна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологии микроорганизмов, Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-7899-555X>, e-mail: galkina333@mail.ru.

Щелканов Михаил Юрьевич, доктор биологических наук, директор ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова» Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8610-7623>, e-mail: adorob@mail.ru.

Tatyana V. Tabakaeva, Researcher, Laboratory of Ectoparasitology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9517-7495>, e-mail: rabchan1992@gmail.com.

Alexander V. Tsybulsky, Candidate of Science (Medicine), Associate Professor, Department of Biochemistry, Microbiology and Biotechnology, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5408-1454>, e-mail: avt_botech@mail.ru.

Kseniya A. Baranchugova, Post-Graduate Student, Veterinarian, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3617-9711>, e-mail: baranchugovaka@dvfu.ru.

Irina V. Galkina, Candidate of Science (Medicine), Leading Researcher, Laboratory for Microorganism Ecology, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-7899-555X>, e-mail: galkina333@mail.ru.

Mikhail Yu. Shchelkanov, Doctor of Science (Biology), Director, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8610-7623>, e-mail: adorob@mail.ru.



Изучение особенностей распределения модельных коронавирусов в органах и тканях кошачьих в контексте изучения патогенеза COVID-19

В. Н. Афонюшкин^{1,2,3}, О. Е. Сысоева¹, О. С. Козлова¹, Д. В. Шамовская³

¹ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет» (ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ), г. Новосибирск, Россия

² ФГБУН Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук (СФНЦА РАН), р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия

³ ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН), г. Новосибирск, Россия

РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день есть основание считать, что в отличие от классических острых респираторных вирусных инфекций, вызываемых аденовирусами, риновирусами, ортомиксовирусами, COVID-19 ведет себя совершенно по-другому. Во-первых, патологические процессы скорее являются иммунопосредованными, и иммунитет довольно медленно обеспечивает элиминацию вируса из организма. Во-вторых, динамика развития симптомов заболевания, длительность вирусывыделения из кишечника после переболевания дают основание считать, что SARS-CoV-2 находится преимущественно в кишечнике. Возможной причиной этого является то, что в присутствии протеолитических ферментов происходит созревание вирусных частиц, удаление гидрофильных аминокислот с поверхности вириона делает его более гидрофобным и способным прилипать к клеткам за счет гидрофобных взаимодействий. Наличие рецептора ACE2 главным образом в энтероцитах подвздошной кишки не исключает накопление коронавируса в лимфоцитах. Учитывая, что лимфоцитов в желудочно-кишечном тракте больше, чем где-либо, этот факт можно рассматривать как еще одно обоснование преимущественного накопления коронавирусов, в т. ч. SARS-CoV-2, в кишечнике. Отличительной чертой коронавирусной инфекции кошек, и в частности инфекционного перитонита кошек, от COVID-19 человека считалось наличие выпотного перитонита в качестве основного осложнения, ведущего к смерти, в то время как для людей более характерна дыхательная и сердечно-сосудистая недостаточность. Тем не менее уже описаны случаи развития серозного перитонита у людей на фоне COVID-19. В контексте анализируемой модели описанный в работе клинический случай допускает принципиальную возможность обострения хронической коронавирусной инфекции при повторном заражении (суперинфекции) с развитием преимущественно локальной инфекции.

Ключевые слова: кошки, коронавирус, COVID-19, FCoV, SARS-CoV-2, патолого-анатомическое исследование, гистологическое исследование

Для цитирования: Афонюшкин В. Н., Сысоева О. Е., Козлова О. С., Шамовская Д. В. Изучение особенностей распределения модельных коронавирусов в органах и тканях кошачьих в контексте изучения патогенеза COVID-19. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 38–44. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-38-44.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Козлова Ольга Сергеевна, старший преподаватель кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы и паразитологии ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, 630039, Россия, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, д. 160, e-mail: loi-2005@yandex.ru.

Features of model coronaviruses distribution in feline organs and tissues in the context of COVID-19 pathogenesis study

V. N. Afonyushkin^{1,2,3}, O. E. Sysoeva¹, O. S. Kozlova¹, D. V. Shamovskaya³

¹ FSSFEI HE "Novosibirsk State Agricultural University" (FSSFEI HE Novosibirsk SAU), Novosibirsk, Russia

² Siberian Federal Research Center of Agrobiotechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSCA RAS), Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia

³ Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (ICBFM SB RAS), Novosibirsk, Russia

SUMMARY

To date, there is reason to believe that, unlike classical acute respiratory virus infections caused by adenoviruses, rhinoviruses, orthomyxoviruses, COVID-19 behaves completely differently. Firstly, the pathological processes are likely to be immune-mediated and the immune system quite slowly ensures the elimination of the virus from the organism. Secondly, the dynamics of the disease symptom development and the duration of intestinal virus shedding after recovery give reason to believe that the SARS-CoV-2 infection is mainly localized in the intestine. A possible reason is that in the presence of proteolytic enzymes, viral particles mature, hydrophilic amino acids are removed from the surface of the virion, making it more hydrophobic and able to adhere to cells due to hydrophobic interactions. The presence of the ACE2 receptor mainly in the enterocytes of the ileum does not exclude the accumulation of coronavirus in lymphocytes, given that there are more lymphocytes in the gastrointestinal tract than anywhere else, this fact can be considered as another justification for the predominant accumulation of coronaviruses, including SARS-CoV-2 in the intestine. A distinctive feature of feline coronavirus infection and, in particular, infectious feline peritonitis, from human COVID-19 infection was considered to be the presence of effusion peritonitis as the main complication leading to death, while respiratory and cardiovascular insufficiency is more characteristic for humans. Nevertheless, cases of serous peritonitis in humans infected with COVID-19 have already been described. In the context of the analyzed

model, the clinical case described in the study allows principal possibility of exacerbation of chronic coronavirus infection in case of re-infection (superinfection) and development of a predominantly local infection.

Keywords: cats, coronavirus, COVID-19, FCoV, SARS-CoV-2, pathoanatomical examination, histological examination

For citation: Afonyushkin V. N., Sysoeva O. E., Kozlova O. S., Shamovskaya D. V. Features of model coronaviruses distribution in feline organs and tissues in the context of COVID-19 pathogenesis study. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 38–44. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-38-44.

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

For correspondence: Olga S. Kozlova, Senior Lecturer, Department of Veterinary and Sanitary Examination and Parasitology, FSSFEI HE Novosibirsk SAU, 630039, Russia, Novosibirsk, ul. Dobrolyubova, 160, e-mail: loi-2005@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Мировая пандемия коронавируса изменила жизнь и повлияла на здоровье не только человека, но и животных. Циркуляция SARS-CoV-2 наиболее часто выявлялась в популяции кошки домашней. Следует отметить, что среди питомцев, у которых лабораторно был подтвержден диагноз, были как животные, имеющие контакты с инфицированными SARS-CoV-2 владельцами, так и животные из приютов (бродячие) [1].

В популяции кошек циркулируют коронавирусы кошек (feline coronavirus, FCoV) двух серотипов: I и II. Каждый серотип существует в виде двух биотипов с различной патогенностью: кишечный коронавирус кошек (feline enteric coronavirus, FECV) и вирус инфекционного перитонита кошек (FIPV) [2]. Ведущей теорией развития инфекционного перитонита (FIP) является предположение о том, что FIPV возникает в результате соматических мутаций в геноме FECV *de novo*, вследствие чего меняется тропность FECV с энтероцитов на моноциты и макрофаги. Более патогенный FIPV реплицируется в макрофагах [3].

Инфекционный перитонит в 100% случаев приводит к смерти животного на фоне дисфункции печени, нередко отека легких и поражения центральной нервной системы [4]. Несмотря на высокую распространенность FCoV в популяции кошек, процент заболеваемости FIP довольно низкий и редко превосходит 5% от зараженных FCoV животных при скученном содержании [5].

Геном FCoV представлен одноцепочечной РНК, кодирующей 4 структурных белка (спайк – S, оболочка – E, мембрана – M и нуклеокапсид – N) и 7 неструктурных белков [6]. Спайк-белок опосредует связывание и проникновение вируса в клетку, детерминируя тропизм и вирулентность FCoV. Предположительно, мутации в кодирующей последовательности S-белка изменяют тропизм FCoV с энтероцитов на моноциты и макрофаги. В результате FCoV попадает в кровоток и провоцирует развитие перитонита [7].

Существуют общие черты между FCoV и SARS-CoV-2:

1. Не все кошки склонны заражаться FCoV, не все инфицированные кошки длительное время остаются носителями FCoV, только малая часть кошек, зараженных FCoV, погибает от инфекционного перитонита.

2. Тяжелые повреждения респираторной системы у человека при COVID-19, как и полиорганный недостаточность у кошек при FIP, связаны с реакцией иммунной системы, когда иммунокомпетентные клетки повреждают органы и ткани [8].

Научная группа из Китая опубликовала данные о том, что иммунная система кошек может формировать иммунный ответ к SARS-CoV-2 [9]. Более того, возможна передача SARS-CoV-2 от кошки к кошке [10]. Вопрос о том, влечет ли это за собой развитие инфекционного процесса у кошки или ведет к изменению течения уже существующей коронавирусной инфекции, остается открытым. Кроме того, неясно, вносят ли кошки вклад в распространение SARS-CoV-2 среди людей, возможно ли развитие иммунологического ответа у человека в ответ на FCoV и, если возможно, то влияет ли это на течение COVID-19-ассоциированной инфекции?

Сухая форма инфекционного перитонита кошек представляется наиболее близким аналогом острой формы COVID-19 у людей [11]. К сходным чертам следует отнести васкулит, иммуноопосредованный характер поражения органов и тканей (включая антителозависимое усиление инфекции, АЗУИ), диссеминацию возбудителя из желудочно-кишечного тракта [12].

Цель исследования – изучение особенностей распределения модельных коронавирусов в органах и тканях кошачьих в контексте изучения патогенеза COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были рассмотрены особенности разработки концепции патогенеза сочетанной коронавирусной суперинфекции у человека на примере изучения патогенетических механизмов сочетанной инфекции SARS-CoV-2 и FCoV у кошки.

Исследования проводились в виварии СФНЦА РАН. Объектом исследования служили кошки, погибшие от разных форм инфекционного перитонита после контакта с зараженными владельцами, а также ПЦР-позитивные на наличие геномной РНК FCoV и SARS-CoV-2. Предоставленная кДНК и образцы фиксированного в формалине биоматериала от кошек и человека исследовали методами полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и иммунофлуоресцентной микроскопии.

Изучение распределения вируса FCoV в организме животных с FIP проводилось с использованием метода ОТ-ПЦР в режиме реального времени. РНК выделяли из внутренних органов фенол-хлороформной экстракцией, в качестве контроля использовали клонированный фрагмент таргетного гена. Квантификацию контрольной ДНК проводили методом цифровой ПЦР, специфичной для FCoV. Для контроля выделения РНК

и нормализации тестировали РНК бактериофага MS2 (внешний контрольный образец, который добавляли в каждую реакцию) и mRNA генов «домашнего хозяйства» кошки (GAPDH).

Образцы патологического материала фиксировали в 10%-м забуференном формалине. После гистологической проводки парафиновые срезы депарафинировали в ксилоле, после отмывали ксилол этиловым спиртом и погружали в 100 мМ раствор трис-HCl. Демаскировали антигены прогреванием в микроволновой печи в растворе цитратного буфера с pH 6,0.

Ядра клеток докрашивали Hoechst 33258 (Invitrogen, США), фрагмент S-белка выявляли использованием поликлональных кроличьих антител SARS Coronavirus Spike Protein Antibody Cat. No. PA1-41375 (Invitrogen, США). Реакцию проводили в 0,05 М фосфатно-солевом буферном растворе (pH 7,2) с добавлением 0,02% Твин-20 (PBS-T) и 0,3% бычьего сывороточного альбумина. В качестве конъюгата использовали Donkey Anti-Rabbit IgG (H+L), Mouse/Rat/Human SP ads-AF555, Cat. No. 6440-32 (SouthernBiotech, США) в этом же буферном растворе. Реакцию проводили при комнатной температуре в течение часа. Отмывали несвязавшиеся антитела PBS-T (pH 7,2) дистиллированной водой, заключали в глицерин и микроскопировали с использованием люминесцентного микроскопа Imager D1 (Zeiss, Германия) и программного обеспечения AxioVision. Люминесценцию выявляли с использованием систем светодетекторов FS 49, FS 10, FS 20. Для контроля неспецифического связывания конъюгата использовали аналогичные гистологические препараты без первичных антител.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение распределения FCoV в органах и тканях котенка с сухой формой FIP (клинический случай).

Анамнез: все котята из одного помета в возрасте 2 месяцев заболели с признаками ринореи, поноса и угнетения. Один котенок начал худеть в возрасте 5 месяцев и был усыплен с диагнозом «сухая форма вирусного перитонита». Основанием для диагноза являлось обнаружение геномной РНК FCoV в транссудате из плевральной полости. Также на момент постановки диагноза у животного концентрация мочевины в крови была понижена до 3,5 ммоль/л, уровень триглицеридов повышен до 95 г/л, глобулинов – до 70 г/л, соотношение альбумины/глобулины было равно 0,4. Остальные биохимические показатели (глюкоза, креатинин, альбумин, аламинотрансфераза, щелочная фосфатаза) находились в пределах нормы. В мазке из плевральной полости обнаружены нейтрофилы, единичные макрофаги и лимфоциты. Гематокрит был понижен до 21,6%, гемоглобин был ниже нормы на 9%, уровень эозинофилов – на 90%, количество тромбоцитов – на 2% (171 клеток/мкл). Остальные гематологические показатели были в пределах нормативных значений. По результатам томографии обнаружили наличие в грудной полости большого количества жидкости, участки инфильтрации повышенной плотности, краниальные доли легких были повышенной рентген-плотности с участками консолидации. Затемнения интерстициального типа наблюдались преимущественно в области краниальной доли левого легкого, также отмечалось наличие бронхоэктазов.

Труп животного подвергли аутопсии сразу после усыпления. Для исследований были отобраны: голов-

ной мозг (гипофиз, лобная доля коры головного мозга, мозолистое тело, обонятельная луковица, теменная область головного мозга, мозжечок, твердая мозговая оболочка), лимфатические узлы (мезентериальные, заглоточные, средостенные, подмышечные, подчелюстные), образцы крови (из воротной вены, левого и правого желудочков сердца), легкое, хоаны, гортань, трахея, транссудат из грудной полости, органы желудочно-кишечного тракта (двенадцатиперстная кишка, ободочная кишка, печень), тимус, селезенка, окологлазная слюнная железа.

Анализ патофизиологических и патолого-анатомических механизмов поражения систем органов у кошек с FIP в сочетании с заражением SARS-CoV-2.

При патолого-анатомическом вскрытии наблюдали отек легких, воспалительные изменения в тимусе, гиперплазию средостенных лимфатических узлов, скопление жидкости в грудной полости. Обращает на себя внимание миогенная дилатация и наличие кровоизлияний в миокарде правого желудочка сердца (рис. 1, 2). Трахея и бронхи характеризовались отсутствием изменений, однако хоаны были в состоянии гиперемии.

При вскрытии органов брюшной полости наблюдались изменения воспалительного характера, преимущественно в мезентериальных лимфатических узлах (рис. 3). Воспалительных изменений слизистой желудочно-кишечного тракта, признаков пиогранулематозного полисерозита не обнаружено. Жидкость в брюшной полости отсутствовала. Также селезенка характеризовалась наличием неравномерной окраски, имелись признаки спленита.

Оценка распределения FCoV в организме котенка.

Картирование распределения FCoV в организме позволило обнаружить вирусную РНК в ободочной кишке, крови правого и левого желудочков сердца, лимфатическом узле средостения, воротной вене, транссудате грудной полости, тимусе и легком.

Вирус не выявили в других отделах желудочно-кишечного тракта и лимфатических узлах, хоанах, головном мозге, печени и почках, либо его концентрация была ниже порога детектирования.

Наибольшее количество FCoV обнаружено в ободочной кишке, в легком вируса было в 3,02 раза меньше, а в тимусе концентрация возбудителя была в 1,46 раза меньше, чем в легком. В крови левого желудочка сердца вирусной РНК было больше, чем правого, в 2,8 раза, в воротной вене – в 5,7 раза меньше, чем в крови правого желудочка (рис. 4).

Сопоставление распределения антигена SARS-CoV-2 в легких человека и внутренних органах кошки при сочетанной инфекции COVID-19 + FIP.

Как показали результаты исследований некоторых авторов, из гистологической картины, наблюдаемой при поражении легких человека вирусом SARS-CoV-2, следует, что вирусный антиген (фрагмент S-белка между сайтами протеолитического расщепления фурином и TMPRSS2), помимо пораженных клеток респираторного эпителия и макрофагов, выявляется на эритроцитах [13]. Фрагмент спайкового белка коронавируса вовсе не обязательно ассоциирован с вирусными частицами. Тем не менее, в контексте иммуноопосредованного поражения легких, наличие данного антигена может иметь патогенетическое значение.

Представляет интерес тот факт, что не все эритроциты в составе легочной ткани окрашиваются антителами



Рис. 1. Воспалительные изменения в тимусе, отек легких, гидроторакс
Fig. 1. Lesions in the thymus, pulmonary edema, hydrothorax

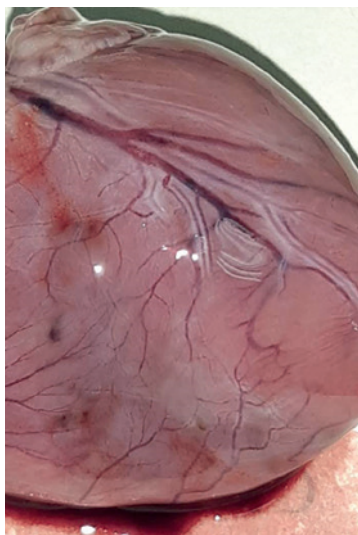


Рис. 2. Правосторонний миокардит, миогенная дилатация и кровоизлияния с участками очаговой гиперемии и ишемии
Fig. 2. Right-sided myocarditis, myogenic dilatation and hemorrhages with areas of focal hyperemia and ischemia



Рис. 3. Воспаление мезентериальных лимфатических узлов
Fig. 3. Inflammation of mesenteric lymph nodes

к SARS-CoV-2 (при люминесцентной микроскопии они интенсивно-черные) [14]. Также реакция иммунного окрашивания отсутствовала в препаратах без первичных антител, что снижает вероятность артефакта (но не исключает окончательно).

У кошки, ПЦР-положительной на наличие геномной РНК SARS-CoV-2, в легких также визуализируется наличие антигена S-белка SARS-CoV-2 (рис. 5), однако преимущественно на апикальной поверхности клеток респираторного эпителия, но не в составе интерстиция или кровеносных сосудов. Утолщение межальвеолярных перегородок и признаки кариолизиса, в т. ч. и при отсутствии локализации данного антигена, не позволяют предположить топологической взаимосвязи между локализацией антигена и патологического процесса (см. также результаты ОТ-ПЦР на FCoV, отраженные на рисунке 4).

Несмотря на то что FCoV в кишечнике, согласно данным ПЦР, представлен в достаточно большом количестве, родственный ему вирус SARS-CoV-2 в кишечнике обнаружен не был ни методом ПЦР, ни методом иммунофлуоресцентного анализа (рис. 6). Отсутствие сигнала позволяет исключить и неспецифическое связывание флуоресцентно-меченных антител с эритроцитами.

В селезенке наблюдается наибольшее количество S-антигена SARS-CoV-2, но преимущественно в составе эритроцитов в просветах кровеносных сосудов, красной пульпе и макрофагах. В лимфоидных узелках селезенки антиген не выявлялся (рис. 7).

Наибольший интерес представляют данные иммунофлуоресцентного анализа печени. Антиген S-белка SARS-CoV-2 распределен в капиллярах, располагающихся преимущественно перилобулярно (рис. 8). Также он обнаруживается в просветах печеночных артерий, но не ветвях воротной вены. Эти данные согласуются с результатами по выявлению анализируемого белка вируса в легких, а не кишечнике. Неравномерность микроциркуляции крови из печеночной артерии и воротной вены позволяет предполагать формирование

центрлобулярной гипоксии за счет иммуноопосредованной агрегации эритроцитов (попавших в печень из легких) или вазоконстрикции, вызванной взаимодействием S-белка с ACE2 рецепторами кровеносных сосудов.

Анализ распределения вирусной РНК в кровеносных сосудах позволяет рассуждать о возможности как гематогенного, так и лимфогенного транспорта коронавируса из кишечника в малый круг кровообращения легких (рис. 4). Неравное количество вирусной РНК в воротной вене, печени и правом желудочке сердца создает только две возможности резкого увеличения концентрации вируса в правом желудочке: 1) в печени может образовываться много вирусных частиц (несмотря на то что методом ОТ-ПЦР не обнаружили вирусную РНК), 2) значительная часть вирусных частиц попадает лимфогенными путями или из кишечника, или из мезентериальных лимфатических узлов (методом ПЦР

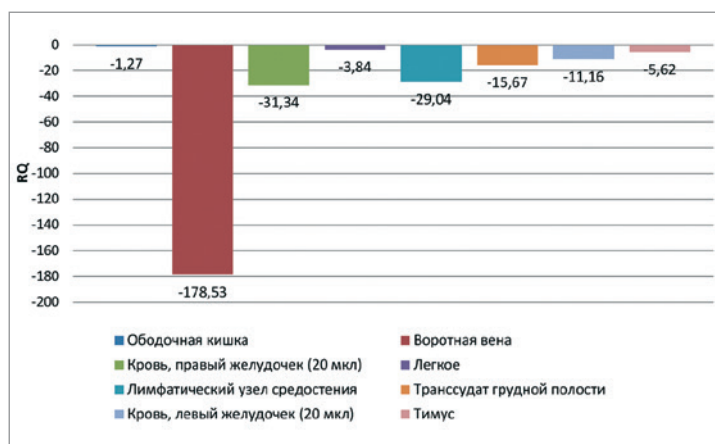


Рис. 4. Относительное количество геномной РНК FCoV (ddCt) в различных органах котенка

Fig. 4. Relative quantity of FCoV genomic RNA (ddCt) in different organs of a kitten

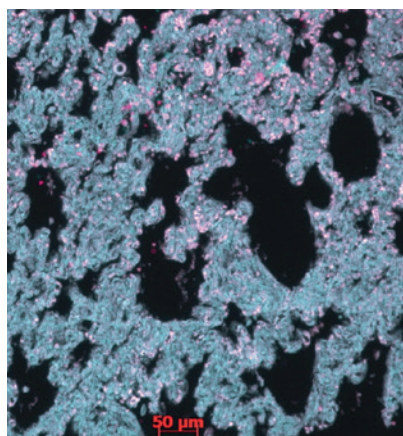


Рис. 5. Распределение антигена SARS-CoV-2 в ткани легких кошки (иммунофлуоресценция, окраска Hoechst 33258 антитела к S-белку SARS-CoV-2 и конъюгат с меткой AlexaFluor 555, увеличение 150х)

Fig. 5. SARS-CoV-2 antigen distribution in feline lung tissue (immunofluorescence, Hoechst 33258 staining of anti-SARS-CoV-2 S protein antibody and AlexaFluor 555-labeled conjugate, 150× magnification)

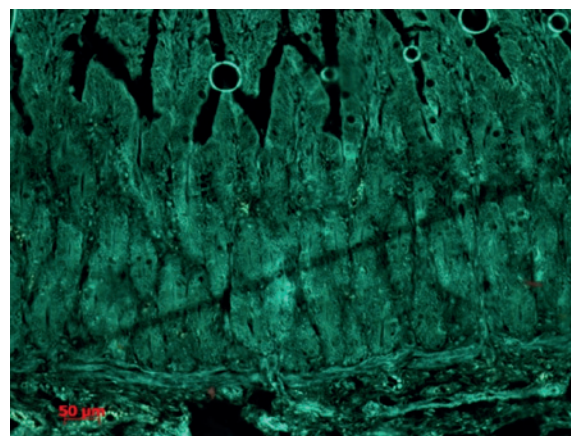


Рис. 6. Распределение антигена SARS-CoV-2 в ткани тощей кишки кошки (иммунофлуоресценция, окраска Hoechst 33258 антитела к S-белку SARS-CoV-2 и конъюгат с меткой AlexaFluor 555, увеличение 150х)

Fig. 6. Distribution of SARS-CoV-2 antigen in feline jejunal tissue (immunofluorescence, Hoechst 33258 staining of anti-SARS-CoV-2 S protein antibody and AlexaFluor 555-labeled conjugate, 150× magnification)

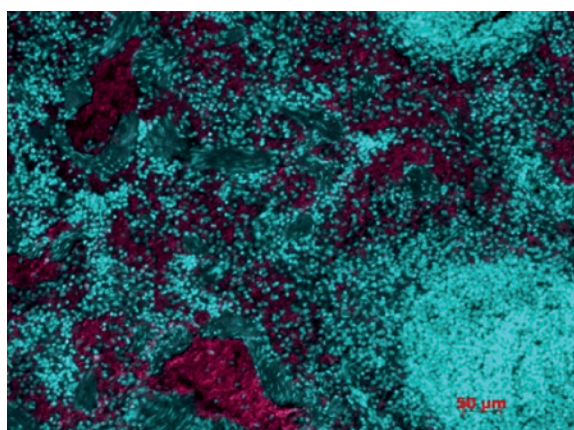


Рис. 7. Распределение антигена SARS-CoV-2 в селезенке (иммунофлуоресценция, окраска Hoechst 33258 антитела к S-белку SARS-CoV-2 и конъюгат с меткой AlexaFluor 555, увеличение 150х)

Fig. 7. Distribution of SARS-CoV-2 antigen in feline spleen (immunofluorescence, Hoechst 33258 staining of anti-SARS-CoV-2 S protein antibody and AlexaFluor 555-labeled conjugate, 150× magnification)

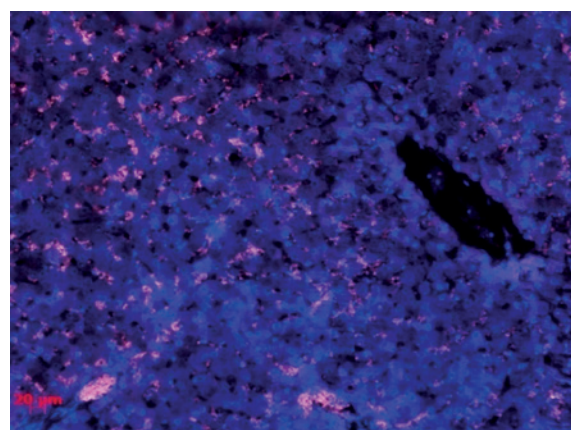


Рис. 8. Распределение антигена SARS-CoV-2 в печени (иммунофлуоресценция, окраска Hoechst 33258 антитела к S-белку SARS-CoV-2 и конъюгат с меткой AlexaFluor 555, увеличение 150х)

Fig. 8. Distribution of SARS-CoV-2 antigen in liver (immunofluorescence, Hoechst 33258 staining of anti-SARS-CoV-2 S protein antibody and AlexaFluor 555-labeled conjugate, 150× magnification)

тем не менее вирусная РНК обнаружена не была). Следует отметить неравномерный характер воспалительных процессов в мезентериальных лимфатических узлах.

Ассиметричное распространение повреждений миокарда (правосторонний миокардит и миогенная дилатация, рис. 2) позволяет предполагать более долгосрочный характер попадания вирусного агента из большого круга кровообращения в легкие, а не из верхних дыхательных путей, где вирус не обнаружен. Несмотря на повреждения коронавирусом легких до состояния, несовместимого с жизнью, ОТ-ПЦР оказался недостаточно чувствительным методом для выявления вируса в носу. Этот факт позволяет усомниться в высокой эффективности ПЦР-диагностики коронавирусных пневмоний, в т. ч. и у людей, при попытке детекции вируса в носовых ходах или ротовой полости.

На основе вышеизложенных предположений вытекают различные прогнозы. Вирус должен длительное время выделяться из кишечника (и этот прогноз реализовался), в т. ч. у людей, имеющих антитела. Инкубационный период при таком типе размножения и распределения вирусов может быть достаточно длительным и/или сопровождаться бессимптомным носительством (было бы сложно представить длительное бессимптомное носительство вируса в бронхах и трахее).

Такая гипотеза объясняет и то, что признаки поражения кишечника являются одним из наиболее ранних при COVID-19. Резкий всплеск концентрации возбудителя в легких возможен при распознавании вируса в кишечнике клетками иммунной системы, развитии воспаления кишечника, возросшей перфузии кишечника кровью и, соответственно, массивном попа-

дании вирусов и активированных Т-клеток, нейтрофилов из каудальной полой вены в правое предсердие и желудочек (что должно приводить преимущественно к правостороннему поражению сердца).

Чтобы РНК SARS-CoV-2 упаковалась в капсид другого вируса, она должна специфически связаться с белком нуклеокапсида N. Видимо, в этом процессе может участвовать белок M [15]. То есть со всеми видами коронавирусов этот процесс пройти не может. Однако представляется возможным сравнить вторичные структуры РНК разных коронавирусов и аминокислотные последовательности N (лучше третичные) и спрогнозировать риски межвидового перехода методами биоинформатики. Если учесть сходство FCoV и SARS-CoV-2, то формирование комплекса вирусной РНК представителей рода *Betacoronavirus* с белком нуклеокапсида генома вируса инфекционного бронхита (IBV) маловероятно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные в ходе работы, позволили уточнить ряд эпизоотологических особенностей болезни, подтвердить и дополнить имеющиеся данные о клинической картине у животных, инфицированных FCoV и SARS-CoV-2, а также изучить патолого-анатомическую картину и гистологические изменения при этой патологии.

В исследовании были доказаны механизмы распределения коронавирусов и их передача из органов, в которых происходит наибольшая репликация вируса (тимус и кишечник), в легкие, где идет накопление попавших гематогенным путем вирусных частиц уже в меньшем объеме относительно других органов-мишеней. Признаки поражения кишечника являются одним из наиболее ранних при COVID-19 [16]. Резкий всплеск концентрации вируса в легких возможен при распознавании вируса в кишечнике клетками иммунной системы, развитии воспаления кишечника, возросшей перфузии кишечника кровью и, соответственно, массивном попадании вирусов, активированных Т-клеток и нейтрофилов из каудальной полой вены в правое предсердие и желудочек (что должно приводить преимущественно к правостороннему поражению сердца).

В контексте анализируемой модели описанный клинический случай допускает принципиальную возможность обострения хронической коронавирусной инфекции при повторном заражении (суперинфекции) с развитием преимущественно локальной инфекции. Также в новом свете представляются эритроциты. Неравномерность популяции эритроцитов в отношении наличия антигена S-белка дает основание рассматривать их в качестве ложных мишеней при взаимодействии с вирусом или в качестве носителей адсорбированных антигенов вируса. Выявленные факты требуют дополнительных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Куприянов И. И. Циркуляция SARS-CoV-2 и проявление COVID-19 у кошки домашней (*Felis catus*). *Животноводство и ветеринарная медицина*. 2022; 2 (45): 59–65. eLIBRARY ID: 49056737.
2. Jaimes J. A., Millet J. K., Stout A. E., André N. M., Whittaker G. R. A tale of two viruses: the distinct spike glycoproteins of feline coronaviruses. *Viruses*. 2020; 12 (1):83. DOI: 10.3390/v12010083.
3. Куликов Е. В., Ватников Ю. А., Сахно Н. В., Попова И. А., Гнездилова Л. А., Кузнецов В. И., Стрижаков А. А. Патологоанатомическая характеристика вирусного перитонита кошек. *RJOAS*. 2017; 4 (64): 270–280. DOI: 10.18551/rjoas.2017-04.34.

4. Chang H. W., Egberink H. F., Halpin R., Spiro D. J., Rottier P. J. Spike protein fusion peptide and feline coronavirus virulence. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18 (7): 1089–1095. DOI: 10.3201/eid1807.120143.
5. Jaimes J. A., Whittaker G. R. Feline coronavirus: Insights into viral pathogenesis based on the spike protein structure and function. *Virology*. 2018; 517: 108–121. DOI: 10.1016/j.virol.2017.12.027.
6. Хайтович А. Б. Коронавирусы (структура генома, репликация). *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. 2020; 10 (4): 78–95. DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-4-78-95.
7. Myrrha L. W., Silva F. M., Peternelli E. F., Junior A. S., Resende M., de Almeida M. R. The paradox of feline coronavirus pathogenesis: a review. *Adv. Virol.* 2011; 2011:109849. DOI: 10.1155/2011/109849.
8. Giordano A., Spagnolo V., Colombo A., Paltrinieri S. Changes in some acute phase protein and immunoglobulin concentrations in cats affected by feline infectious peritonitis or exposed to feline coronavirus infection. *Vet. J.* 2004; 167 (1): 38–44. DOI: 10.1016/s1090-0233(03)00055-8.
9. Zhang Q., Zhang H., Huang K., Yang Y., Hui X., Gao J., et al. SARS-CoV-2 neutralizing serum antibodies in cats: a serological investigation. *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.01.021196.
10. Halfmann P. J., Hatta M., Chiba S., Maemura T., Fan S., Takeda M., et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383 (6): 592–594. DOI: 10.1056/NEJMc2013400.
11. Барсегян Л. С., Сухарев О. И., Куликов Е. В. Инфекционный вирусный перитонит кошек (обзор литературы). *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2015; 1 (25): 16–23. eLIBRARY ID: 23118810.
12. Терехова Ю. О., Цибезов В. В., Рахманина Н. А., Верховский О. А. Метод иммуноблоттинга для выявления антител к коронавирусу при диагностике инфекционного перитонита кошек. *Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние и дикие животные*. 2012; 4: 26–28. eLIBRARY ID: 17863566.
13. Massoth L. R., Desai N., Szabolcs A., Harris C. K., Neyaz A., Crotty R., et al. Comparison of RNA *in situ* hybridization and immunohistochemistry techniques for the detection and localization of SARS-CoV-2 in human tissues. *Am. J. Surg. Pathol.* 2021; 45 (1): 14–24. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001563.
14. Бурячковская Л. И., Мелькумянц А. М., Ломакин Н. В., Антонова О. А., Ермишкин В. В. Повреждение сосудистого эндотелия и эритроцитов у больных COVID-19. *Consilium Medicum*. 2021; 23 (6): 469–476. DOI: 10.26442/20751753.2021.6.200939.
15. Jackwood M. W., Hall D., Handel A. Molecular evolution and emergence of avian gammacoronaviruses. *Infect. Genet. Evol.* 2012; 12 (6): 1305–1311. DOI: 10.1016/j.meegid.2012.05.003.
16. Сарсенбаева А. С., Лазебник Л. Б. Особенности поражения кишечника при COVID-19. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2020; 184 (12): 16–22. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-184-12-16-22.

REFERENCES

1. Kupriyanov I. I. Circulation of SARS-CoV-2 and manifestation of COVID-19 in house cat (*Felis catus*). *Animal Agriculture and Veterinary Medicine*. 2022; 2 (45): 59–65. eLIBRARY ID: 49056737. (in Russ.)
2. Jaimes J. A., Millet J. K., Stout A. E., André N. M., Whittaker G. R. A tale of two viruses: the distinct spike glycoproteins of feline coronaviruses. *Viruses*. 2020; 12 (1):83. DOI: 10.3390/v12010083.
3. Kulikov E. V., Vatinikov Y. A., Sakhno N. V., Popova I. A., Gnezdilova L. A., Kuznetsov V. I., Strizhakov A. A. Pathologicoanatomical characteristics of feline infectious peritonitis. *RJOAS*. 2017; 4 (64): 270–280. DOI: 10.18551/rjoas.2017-04.34. (in Russ.)
4. Chang H. W., Egberink H. F., Halpin R., Spiro D. J., Rottier P. J. Spike protein fusion peptide and feline coronavirus virulence. *Emerg. Infect. Dis.* 2012; 18 (7): 1089–1095. DOI: 10.3201/eid1807.120143.
5. Jaimes J. A., Whittaker G. R. Feline coronavirus: Insights into viral pathogenesis based on the spike protein structure and function. *Virology*. 2018; 517: 108–121. DOI: 10.1016/j.virol.2017.12.027.
6. Khaitovich A. B. Coronavirus (genome structure, replication). *Crimea Journal of Experimental and Clinical Medicine*. 2020; 4 (10): 78–95. DOI: 10.37279/2224-6444-2020-10-4-78-95. (in Russ.)
7. Myrrha L. W., Silva F. M., Peternelli E. F., Junior A. S., Resende M., de Almeida M. R. The paradox of feline coronavirus pathogenesis: a review. *Adv. Virol.* 2011; 2011:109849. DOI: 10.1155/2011/109849.
8. Giordano A., Spagnolo V., Colombo A., Paltrinieri S. Changes in some acute phase protein and immunoglobulin concentrations in cats affected by feline infectious peritonitis or exposed to feline coronavirus infection. *Vet. J.* 2004; 167 (1): 38–44. DOI: 10.1016/s1090-0233(03)00055-8.
9. Zhang Q., Zhang H., Huang K., Yang Y., Hui X., Gao J., et al. SARS-CoV-2 neutralizing serum antibodies in cats: a serological investigation. *bioRxiv*. 2020. DOI: 10.1101/2020.04.01.021196.

10. Halfmann P. J., Hatta M., Chiba S., Maemura T., Fan S., Takeda M., et al. Transmission of SARS-CoV-2 in domestic cats. *N. Engl. J. Med.* 2020; 383 (6): 592–594. DOI: 10.1056/NEJMc2013400.

11. Barsegyan L. S., Sukharev O. I., Kulikov Ye. V. Feline infectious peritonitis virus infection (literature review). *Actual Questions of Veterinary Biology.* 2015; 1 (25): 16–23. eLIBRARY ID: 23118810. (in Russ.)

12. Terekhova Yu. O., Tsibezov V. V., Rakhmanina N. A., Verkhovsky O. A. Immunoblotting assay for detection of coronaviruses antibodies for feline infectious peritonitis (FIP) diagnosis. *Russian Veterinary Journal. Small Pets and Wild Animals.* 2012; 4: 26–28. eLIBRARY ID: 17863566. (in Russ.)

13. Massoth L. R., Desai N., Szabolcs A., Harris C. K., Neyaz A., Crotty R., et al. Comparison of RNA *in situ* hybridization and immunohistochemistry techniques for the detection and localization of SARS-CoV-2 in human tissues. *Am. J. Surg. Pathol.* 2021; 45 (1): 14–24. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001563.

14. Buryachkovskaya L. I., Melkumyants A. M., Lomakin N. V., Antonova O. A., Ermishkin V. V. Injury of vascular endothelium and erythrocytes in COVID-19 patients. *Consilium Medicum.* 2021; 23 (6): 469–476. DOI: 10.26442/20751753.2021.6.200939. (in Russ.)

15. Jackwood M. W., Hall D., Handel A. Molecular evolution and emergence of avian gammacoronaviruses. *Infect. Genet. Evol.* 2012; 12 (6): 1305–1311. DOI: 10.1016/j.meegid.2012.05.003.

16. Sarsenbaeva A. S., Lazebnik L. B. Features of intestinal damage in COVID-19. *Experimental and clinical gastroenterology.* 2020; 184 (12): 16–22. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-184-12-16-22. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 08.01.2023

Поступила после рецензирования / Revised 20.01.2023

Принята к публикации / Accepted 26.01.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Афонюшкин Василий Николаевич, кандидат биологических наук, заведующий сектором СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия; сотрудник ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск, Россия; доцент кафедры эпизоотологии и микробиологии ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5177-4733>, e-mail: lisocim@mail.ru.

Сысоева Ольга Евгеньевна, студентка 4-го курса бакалавриата ветеринарно-санитарной экспертизы факультета ветеринарной медицины, ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6361-7214>, e-mail: olya.sysoeva@internet.ru.

Козлова Ольга Сергеевна, старший преподаватель кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы и паразитологии ФГБОУ ВО Новосибирский ГАУ, г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3191-7597>, e-mail: loi-2005@yandex.ru.

Шамовская Дарья Вадимовна, младший научный сотрудник ИХБФМ СО РАН, г. Новосибирск, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2934-5451>, e-mail: shamovskaya@gmail.ru.

Vasiliy N. Afonyushkin, Candidate of Science (Biology), Head of Sector, SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia; Researcher of the ICBFM SB RAS, Novosibirsk, Russia; Associate Professor of the Department of Epizootology and Microbiology, FSSFEI HE Novosibirsk SAU, Novosibirsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5177-4733>, e-mail: lisocim@mail.ru.

Olga E. Sysoeva, 4th year Undergraduate Student of Veterinary and Sanitary Expert, Faculty of Veterinary Medicine, FSSFEI HE Novosibirsk SAU, Novosibirsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6361-7214>, e-mail: olya.sysoeva@internet.ru.

Olga S. Kozlova, Senior Lecturer, Department of Veterinary and Sanitary Examination and Parasitology, FSSFEI HE Novosibirsk SAU, Novosibirsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3191-7597>, e-mail: loi-2005@yandex.ru.

Daria V. Shamovskaya, Junior Researcher, ICBFM SB RAS, Novosibirsk, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2934-5451>, e-mail: shamovskaya@gmail.ru.

DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-45-51
УДК 619:578.834.1:616-076

Разработка тест-системы для обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 в биоматериале от животных методом полимеразной цепной реакции

А. М. Тимина, А. С. Яковлева, М. В. Тиманов, М. В. Бирюченкова, Е. С. Орлова

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

РЕЗЮМЕ

Сегодня внимание всего мирового сообщества приковано к одной общей проблеме – распространению новой коронавирусной инфекции (COVID-19). С конца декабря 2019 г. коронавирус SARS-CoV-2 охватил большинство стран мира, и 11 марта 2020 г. Всемирной организацией здравоохранения была объявлена пандемия. Глобальное распространение COVID-19 не ограничилось человеческой популяцией, и возникла необходимость тестирования домашних и сельскохозяйственных животных, находящихся в контакте с человеком. Появляется все больше сообщений о выявлении SARS-CoV-2 у норок, хорьков, собак, кошек, тигров, львов и других животных. Основным методом диагностики COVID-19 на сегодняшний день является полимеразная цепная реакция, однако все существующие в настоящее время тест-системы предназначены для выявления вируса у людей. В статье представлены данные по разработке метода обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 в биоматериале от животных с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени. В процессе проведенных исследований выбрана оптимальная система праймеров и зонд, отработаны условия реакции, определены основные валидационные характеристики метода (чувствительность, специфичность, воспроизводимость). В результате проведения валидации установлено, что он отвечает требованиям, предъявляемым к качественным методам измерений/испытаний, и может применяться в диагностических исследованиях. На основе разработанного метода создана тест-система для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в биоматериале от животных, которая внедрена в ветеринарную практику. Проведены скрининговые исследования популяций животных из различных регионов Российской Федерации с целью выявления генома нового коронавируса. Показано, что среди травоядных животных Российской Федерации вирус SARS-CoV-2 не встречается. Среди домашних животных-компаньонов специалистами ФГБУ «ВНИИЗЖ» был зафиксирован лишь один положительный случай.

Ключевые слова: новый коронавирус SARS-CoV-2, полимеразная цепная реакция в реальном времени, тест-система, биоматериал от животных

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Ветеринарное благополучие». Авторы благодарят сотрудников ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинова» Минздрава России за предоставленные образцы биоматериала, полученного от людей.

Для цитирования: Тимина А. М., Яковлева А. С., Тиманов М. В., Бирюченкова М. В., Орлова Е. С. Разработка тест-системы для обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 в биоматериале от животных методом полимеразной цепной реакции. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 45–51. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-45-51.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Тимина Анна Михайловна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: timina@arriah.ru.

Development of polymerase chain reaction kit for detection of SARS-CoV-2 RNA in biological samples collected from animals

A. M. Timina, A. S. Yakovleva, M. V. Timanov, M. V. Biryuchenkova, Ye. S. Orlova

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

SUMMARY

Today, global attention is drawn to the same common problem – spread of the novel COVID-19 infection. From the end of December 2019 novel SARS-CoV-2 virus spread over the majority of the countries and on 11 March 2020 the World Health Organization announced pandemic. Global spread of COVID-19 was not limited to the human population and there was a need to test pets and farm animals, who were in contact with the humans. There are more and more reports on SARS-CoV-2 detected in minks, ferrets, dogs, cats, tigers, lions and other animals. Today the key method of COVID-19 diagnosis is polymerase chain reaction, but all currently available test-kits are intended for the virus detection in humans. The paper demonstrates data on the development of the real-time PCR-based method for SARS-CoV-2 RNA detection in the biological samples collected from animals. During the research, an optimal system of primers and a probe were selected, reaction conditions were tested, basic validation specifications (sensitivity, specificity, reproducibility) were set. The validation results demonstrated that the method met

all the criteria of the high-quality measurement/test methods and it can be used for diagnostic tests. The test-kit was based of the method intended for SARS-CoV-2 RNA detection in animal biological samples and it was put into the veterinary practice. Animal populations in different regions of the Russian Federation were subjected to the screening tests in order to detect the novel coronavirus genome. No SARS-CoV-2 was reported in herbivorous animals in the Russian Federation. The FGBI "ARRIAH" experts detected only one positive pet animal.

Keywords: novel SARS-CoV-2, real-time polymerase chain reaction, test-kit, animal biological sample

Acknowledgements: The work was funded by the FGBI "ARRIAH" as a part of the research activities "Animal Health and Welfare". The authors are grateful to the specialists of the Smorodintsev Research Institute of Influenza (Ministry of Health of the Russian Federation) for the kindly provided human biological samples.

For citation: Timina A. M., Yakovleva A. S., Timanov M. V., Biryuchenkova M. V., Orlova Ye. S. Development of polymerase chain reaction kit for detection of SARS-CoV-2 RNA in biological samples collected from animals. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 45–51. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-45-51.

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

For correspondence: Anna M. Timina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: timina@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Новый коронавирус SARS-CoV-2 вызывает тяжелую форму пневмонии у людей (COVID-19), подобную MERS-CoV и SARS-CoV. Он относится к РНК-содержащим вирусам семейства *Coronaviridae* линии Beta-CoV B.

Первые случаи заболевания человека пневмонией неизвестного происхождения были зарегистрированы в декабре 2019 г. в городе Ухань китайской провинции Хубэй [1]. Новый коронавирус был выделен из эпителиальных клеток дыхательных путей человека и идентифицирован как возбудитель заболевания [2]. В 2020 г. подавляющее большинство стран мира сообщили о случаях заболевания людей, и Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила COVID-19 пандемией [3, 4].

У пациентов COVID-19 проявляется такими ярко выраженными клиническими симптомами, как лихорадка, сухой кашель, одышка, ринорея, ангина, интерстициальные инфильтраты в легких [5].

Считается, что предшественником SARS-CoV-2 является коронавирус летучих мышей (*Rhinolophus sinicus*). От летучих мышей к человеку вирус перешел через промежуточного хозяина, установить которого пока не удалось [6–10]. Глобальное распространение SARS-CoV-2 не ограничилось человеческой популяцией. В настоящее время имеется много сообщений о случаях обнаружения нового коронавируса у животных: норки, собак, кошек, тигров и львов. Опыты по экспериментальному заражению показали, что хорьки и кошки очень восприимчивы к SARS-CoV-2 и могут передавать вирус от инфицированных здоровым животным контактным или воздушно-капельным путем [11–17].

Восприимчивость животных к SARS-CoV-2, вероятно, объясняется тем, что рецептором связывания с вирусом является клеточный ангиотензинпревращающий фермент типа 2 (ACE2), который почти идентичен или похож у человека и таких видов животных, как куны, кошачьи, свиньи и обезьяны [16, 18, 19]. Таким образом, существует потенциальная возможность формирования резервуара SARS-CoV-2 в популяции домашних животных, следовательно, эпидемиологический надзор за COVID-19 должен предусматривать диагности-

ческие и мониторинговые исследования животных-компаньонов.

Рекомендованным методом специфической лабораторной диагностики COVID-19 является выявление РНК SARS-CoV-2 с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Благодаря высокой чувствительности и специфичности данный метод идеален для первичного скрининга [20–23].

На сегодняшний день разработано достаточное количество тест-систем для выявления возбудителя SARS-CoV-2 у людей, однако они не предназначены для анализа образцов биоматериала от животных [24–27]. Таким образом, разработка надежного чувствительного и специфичного метода для диагностики COVID-19 у животных является актуальной задачей.

Целью данной работы являлось создание тест-системы для обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в биоматериале от животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биоматериал. Первоначальный изолят вируса SARS-CoV-2, выделенный от человека, был любезно предоставлен ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России. В работе использовали пробы биоматериала, полученные от людей (смывы из носовой и ротовой полости) и животных (нососовые смывы, легкие). Объектами исследования служили как домашние (свиньи, крупный рогатый скот (КРС), овцы, козы), так и дикие (кабаны, лоси, олени, изюбры, косули, яки, антилопы, зубры, туры, маралы, сайгаки, горные козлы, кабарги, дзерены) животные. При анализе продуктов питания отбирали смывы с поверхностей мясной продукции и полуфабрикатов, а также с упаковки.

Референтные штаммы. Для проверки специфичности метода были использованы вирусы, принадлежащие к семейству *Coronaviridae*: SARS-CoV-2, трансмиссивного гастроэнтерита свиней (ТГС), эпидемиологической диареи свиней (ЭДС), респираторный коронавирус свиней, коронавирус КРС, инфекционного бронхита кур (ИБК), а также гетерологичные вирусы: репродуктивно-респираторного синдрома

свиней (PPCC), парвовирус свиней (ПВС), цирковирус свиней типа 2 (ЦВС-2), болезни Ауески (ВБА), инфекционной бурсальной болезни (ИББ), гриппа А, инфекционного ринотрахеита КРС (ИРТ), парагриппа-3 (ПГ-3).

Выделение РНК из 10%-й суспензии биоматериала осуществляли с использованием 6 М гуанидин тиоцианата и стекловолнистых фильтров GF/F [28]. Работу с нуклеиновой кислотой проводили в условиях, регламентированных МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

Полимеразная цепная реакция. Условия и режимы реакции описаны далее. Для проведения ПЦР собирали реакционную смесь, которая содержала 5 мкл 10× буфера для Taq-полимеразы, 3 мМ Mg²⁺, 0,2 мМ dNTPs, 2 ед. Taq-ДНК-полимеразы, по 5 пмоль праймеров, 5 мкл раствора ДНК и воду до конечного объема 50 мкл. Реакцию проводили на ДНК-амплификаторе Mastercycler (Eppendorf, Германия). Программа включала обратную транскрипцию при 42 °С 15 мин и 35 циклов амплификации при следующем температурном режиме: 30 с денатурации при 94 °С, 30 с отжига праймеров при 55 °С и 40 с элонгации при 72 °С. Продукты реакции анализировали с помощью электрофореза в 2%-м агарозном геле, содержащем 0,001% бромистого этидия, при силе тока 50 мА.

Молекулярное клонирование участка гена N вируса SARS-CoV-2 осуществляли с помощью набора CloneJET PCR Cloning Kit (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции производителя. Выделение плазмидной ДНК проводили с помощью GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции производителя.

Нуклеотидные последовательности. В работе использовали имеющиеся в базе данных GenBank нуклеотидные последовательности вируса SARS-CoV-2. Анализ нуклеотидных последовательностей проводили с использованием пакета прикладных программ BioEdit.

Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР-РВ). Условия и режимы реакции описаны далее. Все реакции проводили на термоциклере C1000 Touch™ с измерительным модулем CFX96 (Bio-Rad, США).

Для статистической обработки данных использовали методы валидации аналитических методик [29, 30]. Были определены такие характеристики, как чувствительность и специфичность метода, прецизионность в условиях сходимости и воспроизводимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Дизайн праймеров. К моменту начала работы над созданием тест-системы на сайте ВОЗ было опубликовано несколько протоколов лабораторной диагностики COVID-19. В результате их анализа из обширного перечня олигонуклеотидов, рекомендуемых для обнаружения COVID-19, были выбраны праймеры и зонд, предложенные Центром по контролю и профилактике заболеваний (CDC, США):

праймер 1 – GACCCCAAAATCAGCGAAAT;
праймер 2 – TCTGGTTACTGCCAGTTGAATCTG;
зонд – ROX ACCCCGCGATTACGTTTGGTGGACC BHQ2.

Выбранные олигонуклеотиды комплементарны N-гену вируса SARS-CoV-2.

Разработка и валидация метода обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 с помощью ОТ-ПЦР-РВ. В ходе оптимизации были определены состав реакционной смеси и температурно-временной режим реакции.

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 dNTPs, 0,2 мкл (1 ед.) Taq-ДНК-полимеразы, 0,4 мкл (20 ед.) M-MLV-ревертазы, 1 мкл воды без нуклеаз и 5 мкл РНК.

Программа амплификации включала в себя этапы обратной транскрипции при 42 °С 15 мин с последующей денатурацией при 95 °С 5 мин и 40 циклов собственно ПЦР (денатурация при 95 °С 15 с, отжиг при 55 °С 15 с и элонгация при 60 °С 20 с).

В качестве порогового значения реакции, при котором проба считается положительной, было принято считать Ct ≤ 35.

Специфичность метода была проверена на нескольких видах вирусов, принадлежащих к семейству *Coronaviridae* (SARS-CoV-2, респираторный коронавирус свиней, коронавирус КРС, вирусы ТГС, ЭДС, ИБК), и других возбудителях болезней сельскохозяйственных животных (ПВС, ЦВС-2, ВБА, вирусы РРСС, ИББ, гриппа А, ИРТ, ПГ-3), а также на РНК/ДНК, выделенной из тканей свиней, КРС, кур. Положительная реакция наблюдалась только с РНК вируса SARS-CoV-2, что свидетельствует о специфичности метода (рис. 1).

Для определения чувствительности исследовали серию последовательных 10-кратных разведений РНК вируса SARS-CoV-2.

Чувствительность определяли как процентное отношение положительных результатов, полученных при использовании валидируемой тест-системы, к общему количеству исследований по формуле:

$$Se = (ИП / (ИП + ЛО)) \times 100\%,$$

где ИП – истинно положительный результат;

ЛО – ложноотрицательный результат.

Все исследованные пробы с наличием РНК вируса SARS-CoV-2 показали в валидируемой тест-системе положительный результат (табл. 1). Таким образом, рассчитанная чувствительность валидируемой тест-системы составила 100%.

Оценка воспроизводимости тест-системы. При определении воспроизводимости исследовали одну положительную и одну отрицательную пробы в 10 повторностях, выполненных при измененных условиях измерения: одним исследователем в параллельных исследованиях в течение разных дней (10 дней) и двумя разными исследователями в параллельных исследованиях (в 10 повторностях). Для определения сходимости учитывали степень близости результатов последовательных измерений одной и той же пробы. Для валидируемой тест-системы воспроизводимость была абсолютна, т. е. положительная проба всегда показывала положительный результат, а отрицательная проба – отрицательный.

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 разработаны методические указания по обнаружению РНК вируса

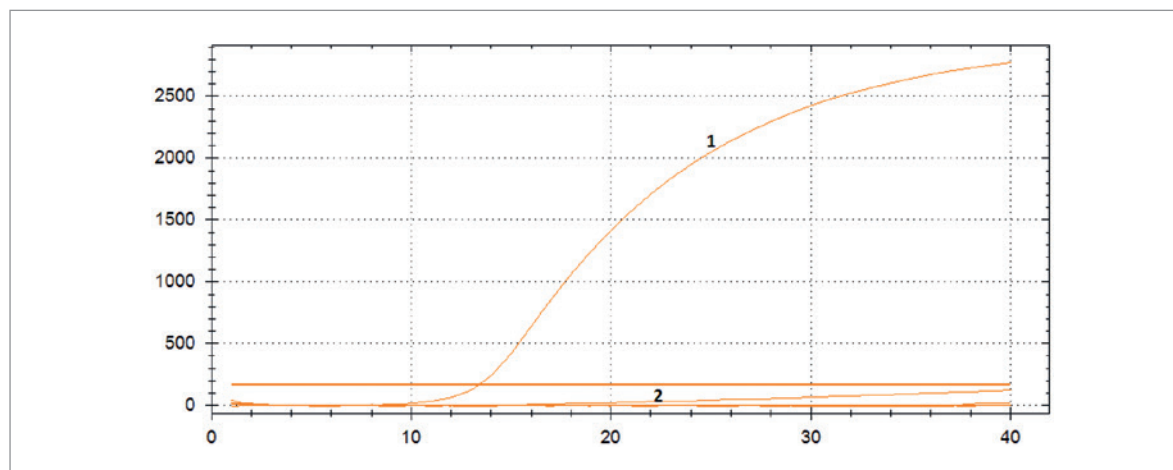


Рис. 1. Обнаружение SARS-CoV-2 методом ПЦР-РВ в биоматериале от животных:

1 – проба назального мазка, содержащая SARS-CoV-2;

2 – пробы, отрицательные в отношении SARS-CoV-2 (вирус ТГС, вирус ЭДС, респираторный коронавирус свиней, коронавирус КРС, вирус ИБК, вирус РРСС, ПВС, ЦВС-2, ВБА, вирус ИББ, вирус гриппа А, вирус ИПТ, вирус ПГ-3, тканевая РНК неинфицированных свиней, КРС, кур)

Fig. 1. Detection of SARS-CoV-2 in animal biological samples using real-time PCR:

1 – SARS-CoV-2-containing nasal swab;

2 – SARS-CoV-2-negative sample (TGEV, PEDV, PRCoV, BCoV, IBV, PRRSV, PPV, PCV-2, ADV, IBDV, influenza A virus, BHV-1, bPIV-3, tissue RNA of non-infected pigs, cattle, chickens)

SARS-CoV-2 с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, которые применялись в дальнейшем для диагностики COVID-19 у животных.

Разработка тест-системы для обнаружения РНК коронавируса «SARS-CoV-2 ОТ-ПЦР-РВ». Получение рекомбинантной плазмиды, содержащей участок гена N вируса SARS-CoV-2. Тест-система для широкого употребления должна удовлетворять требованиям безопасности, поэтому в качестве положительного контроля решено было использовать рекомбинантную плазмиду.

Участок гена N вируса SARS-CoV-2 амплифицировали методом ПЦР, используя РНК коронавируса, полученную в ФГБУ «НИИ гриппа им. А. А. Смородинцева» Минздрава России. В реакции применяли праймеры, рассчитанные на консервативный участок генома. В результате трансформации лигазной смесью из вектора pJET1.2/blunt и амплифицированного фрагмента вирусного гена компетентных клеток *Escherichia coli* JM109 получили клоны, содержащие участок гена N вируса SARS-CoV-2. Наличие специфического участка ДНК в рекомбинантной плазмиде было проверено с помощью нуклеотидного секвенирования.

Физическая карта рекомбинантной плазмиды представлена на рисунке 2.

На следующем этапе была создана тест-система ОТ-ПЦР-РВ, содержащая специфичные олигонуклеотидные праймеры и флуоресцентно меченый олигонуклеотидный зонд, а также осуществлен подбор условий проведения исследований с помощью разработанного диагностикума, обеспечивающих минимальный риск контаминации тестируемых образцов и исключения субъективности при оценке результатов.

Для удобства пользователя набор для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в ОТ-ПЦР-РВ состоит из следующих компонентов:

- № 1 – ОТ-ПЦР-смесь;
- № 2 – фермент Taq-ДНК-полимераза;
- № 3 – фермент M-MLV-ревертаза;
- № 4 – положительный контроль;
- № 5 – отрицательный контроль.

В качестве отрицательного контроля используется деионизованная вода, а в качестве положительного – плазмидная ДНК, содержащая вставку фрагмента гена N вируса SARS-CoV-2. Каждый набор снабжается инструкцией (рис. 3).

Полимеразная цепная реакция в режиме реального времени с обратной транскрипцией проводится в программируемом амплификаторе любой модели в одну

Таблица 1
Пробы, использованные для оценки чувствительности разработанной тест-системы

Table 1
Samples used to test sensitivity of the developed test-kit

Номер пробы	Описание пробы	Статус пробы	Результат, полученный в валидируемой тест-системе, Ct (трактовка результата)
1	образец РНК вируса SARS-CoV-2	положительная	14,21 (положительный)
2	образец РНК вируса SARS-CoV-2	положительная	14,47 (положительный)
3	образец РНК вируса SARS-CoV-2	положительная	16,16 (положительный)
4	образец РНК вируса SARS-CoV-2	положительная	18,49 (положительный)
5	образец РНК вируса SARS-CoV-2	положительная	21,81 (положительный)
6	образец РНК вируса SARS-CoV-2	положительная	19,56 (положительный)
7	образец РНК вируса SARS-CoV-2	положительная	23,33 (положительный)
8	образец РНК вируса SARS-CoV-2	положительная	24,04 (положительный)
9	образец РНК вируса SARS-CoV-2	положительная	22,98 (положительный)
10	образец РНК вируса SARS-CoV-2	положительная	23,21 (положительный)

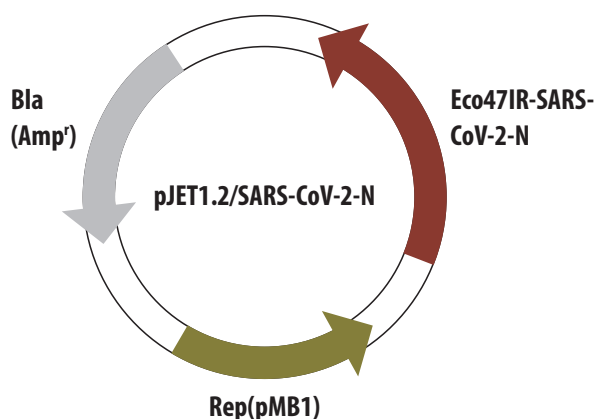


Рис. 2. Физическая карта рекомбинантной плазмиды pJET1.2/SARS-CoV-2-N

Fig. 2. Physical map of the recombinant plasmid pJET1.2/SARS-CoV-2-N

стадию с использованием смеси реактивов для ПЦР и ферментов. Выделение РНК из анализируемых проб осуществляют любым удобным способом или коммерческим набором. В соответствующие пробы вносят образцы отрицательного и положительного контролей.

Результаты интерпретируют на основании наличия (или отсутствия) пересечения кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линии, что соответствует наличию (или отсутствию) значения порогового цикла C_t в соответствующей графе таблицы результатов. Результат считают положительным в случае, если кривая накопления флуоресценции для соответствующего образца имеет характерную сигмовидную форму и пересекает пороговую линию.

В настоящее время имеется много сообщений о случаях обнаружения вируса SARS-CoV-2 у животных (норки, хорьки, кошки, собаки и др.), появляю-

Таблица 2

Исследование биоматериала от травоядных животных на наличие SARS-CoV-2 с использованием набора «SARS-CoV-2 ОТ-ПЦР-РВ»

Table 2

Testing biological samples collected from herbivorous animals for SARS-CoV-2 using “SARS-CoV-2 real-time RT-PCR test kit”

Вид животных	Количество исследованных проб	Количество положительных проб
свиньи	980	0
кабаны	174	0
крупный рогатый скот	220	0
мелкий рогатый скот	20	0
дикие парнокопытные (лоси, олени, изюбры, косули, яки, антилопы, зубры, туры, маралы, сайгаки, горные козлы, кабарги, дзерены и др.)	638	0

ся сведения о выявлении вируса среди травоядных животных (олени). При внедрении разработанного метода был использован имеющийся в обширных количествах биоматериал (носовые смывы, пищеводно-глоточная жидкость, внутренние органы, кровь) от свиней, крупного и мелкого рогатого скота, диких парнокопытных, но ни в одном случае выявить SARS-CoV-2 у представителей данных видов не удалось (табл. 2). Не удалось также обнаружить РНК вируса в образцах мясной продукции, полуфабрикатах и смывах с их упаковки.

С использованием разработанной тест-системы в 2020–2021 гг. в ФГБУ «ВНИИЗЖ» проводились скрининговые исследования в популяциях животных из 20 регионов РФ с целью выявления РНК вируса SARS-CoV-2. Как показали полученные результаты, опубликованные ранее [11], из 1466 проб биоматериала от различных видов животных только в одном случае в ротоглоточном мазке, отобранном у домашней кошки в г. Тюмени, была выявлена РНК SARS-CoV-2. Ни в одной из проб биологического материала от травоядных животных геном нового коронавируса обнаружен не был. Таким образом, использование разработанной тест-системы «SARS-CoV-2 ОТ-ПЦР-РВ» показало, что у домашних животных-компаньонов есть вероятность обнаружения SARS-CoV-2.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных исследований разработан метод обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 с помощью ПЦР-РВ, определены валидационные характеристики метода, на его основе разработана тест-система «SARS-CoV-2 ОТ-ПЦР-РВ» и оформлена в виде набора. С использованием данной тест-системы проанализирован большой объем образцов от животных разных видов. Предлагаемая тест-система внедрена в ветеринарную практику для выявления РНК вируса SARS-CoV-2 в биоматериале от животных с целью постановки и уточнения диагноза, для решения научно-исследовательских задач, проведения мониторинга распространения вируса SARS-CoV-2 у животных. Полученные характеристики тест-системы соответствуют критериям, предъявляемым к качественным лабораторным методам исследования.



Рис. 3. Тест-система для обнаружения РНК вируса SARS-CoV-2 в биоматериале от животных методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени «SARS-CoV-2 ОТ-ПЦР-РВ»

Fig. 3. “SARS-CoV-2 real-time RT-PCR test kit” for detection of SARS-CoV-2 RNA in animal biological samples using real-time polymerase chain reaction

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Zhou P., Yang X. L., Wang X. G., Hu B., Zhang L., Zhang W., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579 (7798): 270–273. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- Gorbalenya A. E., Baker S. C., Baric R. S., de Groot R. J., Drosten C., Gulyaeva A. A. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* 2020; 5 (4): 536–544. DOI: 10.1038/s41564-020-0695-z.
- Kiros M., Andualem H., Kiros T., Hailemichael W., Getu S., Geteneh A., et al. COVID-19 pandemic: current knowledge about the role of pets and other animals in disease transmission. *Viol. J.* 2020; 17 (1):143. DOI: 10.1186/s12985-020-01416-9.
- Ciotti M., Ciccozzi M., Terrinoni A., Jiang W. C., Wang C. B., Bernardini S. The COVID-19 pandemic. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2020; 57 (6): 365–388. DOI: 10.1080/10408363.2020.1783198.
- Hsieh W. H., Cheng M. Y., Ho M. W., Chou C. H., Lin P. C., Chi C. Y., et al. Featuring COVID-19 cases via screening symptomatic patients with epidemiologic link during flu season in a medical center of central Taiwan. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2020; 53 (3): 459–466. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.03.008.
- do Vale B., Lopes A. P., Fontes M. D. C., Silvestre M., Cardoso L., Coelho A. C. Bats, pangolins, minks and other animals – villains or victims of SARS-CoV-2? *Vet. Res. Commun.* 2021; 45 (1): 1–19. DOI: 10.1007/s11259-021-09787-2.
- Cui J., Li F., Shi Z. L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 17 (3): 181–192. DOI: 10.1038/s41579-018-0118-9.
- Ning S., Yu B., Wang Y., Wang F. SARS-CoV-2: origin, evolution, and targeting inhibition. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021; 11:676451. DOI: 10.3389/fcimb.2021.676451.
- Wang M. Y., Zhao R., Gao L. J., Gao X. F., Wang D. P., Cao J. M. SARS-CoV-2: structure, biology, and structure-based therapeutics development. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10:587269. DOI: 10.3389/fcimb.2020.587269.
- Farag E. A., Islam M. M., Enan K., El-Hussein A. M., Bansal D., Haroun M. SARS-CoV-2 at the human-animal interphase: A review. *Heliyon*. 2021; 7 (12):e08496. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e08496.
- Никонова З. Б., Овчинникова Е. В., Щербаклова Л. О., Козлов А. А., Жестков П. Д., Зиняков Н. Г. и др. Выявление возбудителя COVID-19 у животных в 2020–2021 гг. *Молекулярная диагностика: X Юбилейная международная научно-практическая конференция (9–11 ноября, 2021 г.)*. М.: Юлиус; 2021; 2: 379–380. eLIBRARY ID: 47983412.
- Акимова Т. П., Семкина В. П., Митрофанова М. Н., Жильцова М. В., Выставкина Е. С., Исакова Д. Г. и др. Распространение коронавируса SARS-CoV-2 среди людей и животных. *Ветеринария сегодня*. 2021; (2): 88–96. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-88-96.
- Parolin C., Virtuoso S., Giovanetti M., Angeletti S., Ciccozzi M., Borsetti A. Animal hosts and experimental models of SARS-CoV-2 infection. *Chemotherapy*. 2021; 66 (1–2): 8–16. DOI: 10.1159/000515341.
- Meekins D. A., Gaudreault N. N., Richt J. A. Natural and experimental SARS-CoV-2 infection in domestic and wild animals. *Viruses*. 2021; 13 (10):1993. DOI: 10.3390/v13101993.
- Michelitsch A., Wernike K., Ulrich L., Mettenleiter T. C., Beer M. SARS-CoV-2 in animals: From potential hosts to animal models. *Adv. Virus. Res.* 2021; 110: 59–102. DOI: 10.1016/bs.aivir.2021.03.004.
- Sharun K., Dhama K., Pawde A. M., Gortázar C., Tiwari R., Bonilla-Aldana D. K., et al. SARS-CoV-2 in animals: potential for unknown reservoir hosts and public health implications. *Vet. Q.* 2021; 41 (1): 181–201. DOI: 10.1080/01652176.2021.1921311.
- Prince T., Smith S. L., Radford A. D., Solomon T., Hughes G. L., Patterson E. I. SARS-CoV-2 infections in animals: reservoirs for reverse zoonosis and models for study. *Viruses*. 2021; 13 (3):494. DOI: 10.3390/v13030494.
- Maurin M., Fenollar F., Mediannikov O., Davoust B., Devaux C., Raoult D. Current status of putative animal sources of SARS-CoV-2 infection in humans: wildlife, domestic animals and pets. *Microorganisms*. 2021; 9 (4):868. DOI: 10.3390/microorganisms9040868.
- Hossain M. G., Javed A., Akter S., Saha S. SARS-CoV-2 host diversity: An update of natural infections and experimental evidence. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2021; 54 (2): 175–181. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.06.006.
- Dhar B. C. Diagnostic assay and technology advancement for detecting SARS-CoV-2 infections causing the COVID-19 pandemic. *Anal. Bioanal. Chem.* 2022; 414 (9): 2903–2934. DOI: 10.1007/s00216-022-03918-7.
- Kabir M. A., Ahmed R., Iqbal S. M. A., Chowdhury R., Paulmurugan R., Demirci U., Asghar W. Diagnosis for COVID-19: current status and future prospects. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2021; 21 (3): 269–288. DOI: 10.1080/14737159.2021.1894930.
- Chen Q., He Z., Mao F., Pei H., Cao H., Liu X. Diagnostic technologies for COVID-19: a review. *RSC Adv.* 2020; 10 (58): 35257–35264. DOI: 10.1039/d0ra06445a.
- Filchakova O., Dossym D., Ilyas A., Kuanysheva T., Abdizhamil A., Bukasov R. Review of COVID-19 testing and diagnostic methods. *Talanta*. 2022; 244:123409. DOI: 10.1016/j.talanta.2022.123409.
- Corman V. M., Landt O., Kaiser M., Molenkamp R., Meijer A., Chu D. K., et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020; 25 (3):2000045. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
- Long C., Xu H., Shen Q., Zhang X., Fan B., Wang C., et al. Diagnosis of the coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? *Eur. J. Radiol.* 2020; 126:108961. DOI: 10.1016/j.ejrad.2020.108961.
- Kevadiya B. D., Machhi J., Herskovitz J., Oleynikov M. D., Blomberg W. R., Bajwa N., et al. Diagnostics for SARS-CoV-2 infections. *Nat. Mater.* 2021; 20 (5): 593–605. DOI: 10.1038/s41563-020-00906-z.
- Smyrlaki I., Ekman M., Lentini A., Rufino de Sousa N., Papanicolaou N., Vondracek M., et al. Massive and rapid COVID-19 testing is feasible by extraction-free SARS-CoV-2 RT-PCR. *Nat. Commun.* 2020; 11 (1):4812. DOI: 10.1038/s41467-020-18611-5.
- Грибанов О. Г., Щербаклов А. В., Перевозчиков 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. Практикум по GMP. Валидация аналитических методик: теория и практика. *Ремедиум*. 2003; 10: 69–71; 11: 62–64.
- Поляков И. В., Соколова Н. С. Практическое пособие по медицинской статистике. М.: Медицина; 1975. 151 с.

REFERENCES

- Zhou P., Yang X. L., Wang X. G., Hu B., Zhang L., Zhang W., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579 (7798): 270–273. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- Gorbalenya A. E., Baker S. C., Baric R. S., de Groot R. J., Drosten C., Gulyaeva A. A. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol.* 2020; 5 (4): 536–544. DOI: 10.1038/s41564-020-0695-z.
- Kiros M., Andualem H., Kiros T., Hailemichael W., Getu S., Geteneh A., et al. COVID-19 pandemic: current knowledge about the role of pets and other animals in disease transmission. *Viol. J.* 2020; 17 (1):143. DOI: 10.1186/s12985-020-01416-9.
- Ciotti M., Ciccozzi M., Terrinoni A., Jiang W. C., Wang C. B., Bernardini S. The COVID-19 pandemic. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2020; 57 (6): 365–388. DOI: 10.1080/10408363.2020.1783198.
- Hsieh W. H., Cheng M. Y., Ho M. W., Chou C. H., Lin P. C., Chi C. Y., et al. Featuring COVID-19 cases via screening symptomatic patients with epidemiologic link during flu season in a medical center of central Taiwan. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2020; 53 (3): 459–466. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.03.008.
- do Vale B., Lopes A. P., Fontes M. D. C., Silvestre M., Cardoso L., Coelho A. C. Bats, pangolins, minks and other animals – villains or victims of SARS-CoV-2? *Vet. Res. Commun.* 2021; 45 (1): 1–19. DOI: 10.1007/s11259-021-09787-2.
- Cui J., Li F., Shi Z. L. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 2019; 17 (3): 181–192. DOI: 10.1038/s41579-018-0118-9.
- Ning S., Yu B., Wang Y., Wang F. SARS-CoV-2: origin, evolution, and targeting inhibition. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021; 11:676451. DOI: 10.3389/fcimb.2021.676451.
- Wang M. Y., Zhao R., Gao L. J., Gao X. F., Wang D. P., Cao J. M. SARS-CoV-2: structure, biology, and structure-based therapeutics development. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2020; 10:587269. DOI: 10.3389/fcimb.2020.587269.
- Farag E. A., Islam M. M., Enan K., El-Hussein A. M., Bansal D., Haroun M. SARS-CoV-2 at the human-animal interphase: A review. *Heliyon*. 2021; 7 (12):e08496. DOI: 10.1016/j.heliyon.2021.e08496.
- Nikonova Z. B., Ovchinnikova E. V., Scherbakova L. O., Kozlov A. A., Zhestkov P. D., Zinyakov N. G., et al. Vyavleniye vozбудitelya COVID-19 u zhivotnykh v 2020–2021 gg. = COVID-19 agent detection in animals in 2020–2021. *Молекулярная диагностика: X Юбилейная международная научно-практическая конференция (9–11 ноября, 2021 г.)*. = *Molecular Diagnosis: X Anniversary International Research-to-Practice Conference (9–11 November 2021)*. Moscow: Yulius; 2021; 2: 379–380. eLIBRARY ID: 47983412. (in Russ.)
- Акимова Т. П., Семкина В. П., Митрофанова М. Н., Жильцова М. В., Выставкина Е. С., Исакова Д. Г., et al. SARS-CoV-2 spread in humans and animals. *Veterinary Science Today*. 2021; (2): 88–96. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-88-96.
- Parolin C., Virtuoso S., Giovanetti M., Angeletti S., Ciccozzi M., Borsetti A. Animal hosts and experimental models of SARS-CoV-2 infection. *Chemotherapy*. 2021; 66 (1–2): 8–16. DOI: 10.1159/000515341.

14. Meekins D. A., Gaudreault N. N., Richt J. A. Natural and experimental SARS-CoV-2 infection in domestic and wild animals. *Viruses*. 2021; 13 (10):1993. DOI: 10.3390/v13101993.
15. Michelitsch A., Wernike K., Ulrich L., Mettenleiter T. C., Beer M. SARS-CoV-2 in animals: From potential hosts to animal models. *Adv. Virus Res.* 2021; 110: 59–102. DOI: 10.1016/bs.aivir.2021.03.004.
16. Sharun K., Dhama K., Pawde A. M., Gortázar C., Tiwari R., Bonilla-Aldana D. K., et al. SARS-CoV-2 in animals: potential for unknown reservoir hosts and public health implications. *Vet. Q.* 2021; 41 (1): 181–201. DOI: 10.1080/01652176.2021.1921311.
17. Prince T., Smith S. L., Radford A. D., Solomon T., Hughes G. L., Patterson E. I. SARS-CoV-2 infections in animals: reservoirs for reverse zoonosis and models for study. *Viruses*. 2021; 13 (3):494. DOI: 10.3390/v13030494.
18. Maurin M., Fenollar F., Mediannikov O., Davoust B., Devaux C., Raoult D. Current status of putative animal sources of SARS-CoV-2 infection in humans: wildlife, domestic animals and pets. *Microorganisms*. 2021; 9 (4):868. DOI: 10.3390/microorganisms9040868.
19. Hossain M. G., Javed A., Akter S., Saha S. SARS-CoV-2 host diversity: An update of natural infections and experimental evidence. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 2021; 54 (2): 175–181. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.06.006.
20. Dhar B. C. Diagnostic assay and technology advancement for detecting SARS-CoV-2 infections causing the COVID-19 pandemic. *Anal. Bioanal. Chem.* 2022; 414 (9): 2903–2934. DOI: 10.1007/s00216-022-03918-7.
21. Kabir M. A., Ahmed R., Iqbal S. M. A., Chowdhury R., Paulmurugan R., Demirci U., Asghar W. Diagnosis for COVID-19: current status and future prospects. *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2021; 21 (3): 269–288. DOI: 10.1080/14737159.2021.1894930.
22. Chen Q., He Z., Mao F., Pei H., Cao H., Liu X. Diagnostic technologies for COVID-19: a review. *RSC Adv.* 2020; 10 (58): 35257–35264. DOI: 10.1039/d0ra06445a.
23. Filchakova O., Dossym D., Ilyas A., Kuanysheva T., Abdizhamil A., Bukasov R. Review of COVID-19 testing and diagnostic methods. *Talanta*. 2022; 244:123409. DOI: 10.1016/j.talanta.2022.123409.
24. Corman V. M., Landt O., Kaiser M., Molenkamp R., Meijer A., Chu D. K., et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020; 25 (3):2000045. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045.
25. Long C., Xu H., Shen Q., Zhang X., Fan B., Wang C., et al. Diagnosis of the coronavirus disease (COVID-19): rRT-PCR or CT? *Eur. J. Radiol.* 2020; 126:108961. DOI: 10.1016/j.ejrad.2020.108961.
26. Kevadiya B. D., Machhi J., Herskovitz J., Oleynikov M. D., Blomberg W. R., Bajwa N., et al. Diagnostics for SARS-CoV-2 infections. *Nat. Mater.* 2021; 20 (5): 593–605. DOI: 10.1038/s41563-020-00906-z.
27. Smyrlaki I., Ekman M., Lentini A., Rufino de Sousa N., Papanicolaou N., Vondracek M., et al. Massive and rapid COVID-19 testing is feasible by extraction-free SARS-CoV-2 RT-PCR. *Nat. Commun.* 2020; 11 (1):4812. DOI: 10.1038/s41467-020-18611-5.
28. Gribov 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.)
29. Nosyrev P., Nosyrev M., Rasskazova T., Korneeva N. Praktikum po GMP. Validatsiya analiticheskikh metodik: teoriya i praktika = GMP Workshop. Validation of analytical methods: theory and practice. *Remedium*. 2003; 10: 69–71; 11: 62–64. (in Russ.)
30. Polyakov I. V., Sokolova N. S. Practical guide on medical statistics. Leningrad: Meditsina; 1975. 151 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 28.07.2022

Поступила после рецензирования / Revised 30.09.2022

Принята к публикации / Accepted 04.10.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Тимина Анна Михайловна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0109-3507>, e-mail: timina@arriah.ru.

Яковлева Анастасия Сергеевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9211-9110>, e-mail: yakovleva@arriah.ru.

Тиманов Максим Викторович, ведущий ветеринарный врач референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7496-3043>, e-mail: timanov@arriah.ru.

Бирюченкова Марина Вячеславовна, кандидат биологических наук, научный сотрудник референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9131-8839>, e-mail: biruchenkova@arriah.ru.

Орлова Елена Сергеевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник референтной лаборатории по особо опасным болезням ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0568-2680>, e-mail: orlova@arriah.ru.

Anna M. Timina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0109-3507>, e-mail: timina@arriah.ru.

Anastasia S. Yakovleva, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9211-9110>, e-mail: yakovleva@arriah.ru.

Maksim V. Timanov, Leading Veterinarian, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7496-3043>, e-mail: timanov@arriah.ru.

Marina V. Biryuchenkova, Candidate of Science (Biology), Researcher, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9131-8839>, e-mail: biruchenkova@arriah.ru.

Yelena S. Orlova, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Reference Laboratory for Highly Dangerous Diseases, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0568-2680>, e-mail: orlova@arriah.ru.



Сравнительные аспекты диагностики лейкоза крупного рогатого скота при применении реакции иммунодиффузии и иммуноферментного анализа

А. Р. Мустафаев, М. О. Баратов

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

РЕЗЮМЕ

При проведении оздоровительно-профилактических мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота возникает необходимость своевременного выявления инфицированного вирусом лейкоза поголовья в животноводческих хозяйствах. Поэтому важное значение имеет ранняя диагностика с применением более чувствительных и высокоточных методов. В статье приводятся результаты исследования сывороток крови животных на лейкоз крупного рогатого скота методом иммуноферментного анализа и в реакции иммунодиффузии и изучения их эффективности в сравнительном аспекте. Всего серологическим методом с применением реакции иммунодиффузии было исследовано 440 проб крови крупного рогатого скота, из них 37 (8,4%) оказались сероположительными к вирусу лейкоза. Пробы крови животных были получены из Кумторкалинского (127), Карабудахкентского (122), Буйнакского (89) районов, г. Махачкалы (56) и г. Каспия (46). Серопозитивность соответственно составила 17 (13,4%), 8 (6,6%), 5 (5,6%), 4 (7,1%) и 3 (6,5%). С целью сравнительного анализа диагностических тестов было отобрано 100 проб сывороток крови: 5 – РИД-положительных и 95 – РИД-отрицательных, которые исследовали методом иммуноферментного анализа. В результате в четырех РИД-отрицательных пробах выявлены специфические антитела к антигену gp51 вируса лейкоза крупного рогатого скота. При этом все РИД-позитивные пробы сывороток крови методом иммуноферментного анализа также определены как серопозитивные. В общей сложности иммуноферментным анализом было выявлено 9 вирусоносителей, что на 44,4% больше, чем обнаружено с помощью реакции иммунодиффузии. Таким образом, метод иммуноферментного анализа в сравнении с реакцией иммунодиффузии характеризуется более высокой чувствительностью и позволяет дополнительно выявлять инфицированных животных. Однако данный метод кроме преимуществ имеет и ряд недостатков, одним из которых является высокая стоимость диагностического набора для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота и используемого оборудования.

Ключевые слова: вирус лейкоза крупного рогатого скота, специфические антитела, серопозитивность, сравнительный анализ, реакция иммунодиффузии, иммуноферментный анализ, чувствительность и специфичность метода

Для цитирования: Мустафаев А. Р., Баратов М. О. Сравнительные аспекты диагностики лейкоза крупного рогатого скота при применении реакции иммунодиффузии и иммуноферментного анализа. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 52–56. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-52-56.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Comparative assessment of immunodiffusion and enzyme-linked immunosorbent assay used for bovine leukosis diagnosis

A. R. Mustafayev, M. O. Baratov

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

SUMMARY

The implementation of animal health improvement and disease prevention activities with respect to bovine leukosis involves a need for timely detection of cattle infected with bovine leukaemia virus (BLV) on livestock farms. That is why early diagnosis using more sensitive and highly accurate methods is of particular importance. The paper presents the results of cattle serum tests for bovine leukosis with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and immunodiffusion (ID), as well as the comparative assessment of their effectiveness. A total of 440 cattle blood samples were subjected to serological testing with immunodiffusion; 37 (8.4%) of them tested positive for bovine leukaemia virus. The cattle blood samples were submitted from the Kumtorkalinsky (127), Karabudakhkentky (122), Buynaksky (89) Raions, from Makhachkala (56) and Kaspiysk (46). Seropositivity was 17 (13.4%), 8 (6.6%), 5 (5.6%), 4 (7.1%) and 3 (6.5%), respectively. For the comparative assessment of the diagnostic tests, 100 (5 ID-positive and 95 ID-negative) serum samples were taken and tested with ELISA. As a result, specific antibodies against BLV gp51 antigen were detected in 4 ID-negative serum samples. All ID-positive serum samples also tested positive with ELISA. All in all,

9 virus carriers were detected with ELISA, that is 44.4% more than with immunodiffusion. Thus, enzyme-linked immunosorbent assay is characterized by a higher sensitivity, as compared with immunodiffusion, and allows for improved detection of infected animals. However, alongside the advantages, this technique has certain disadvantages, one of which is the high price of the diagnostic test kit for anti-BLV antibody detection and the equipment required.

Keywords: bovine leukaemia virus, specific antibodies, seropositivity, comparative assessment, immunodiffusion, enzyme-linked immunosorbent assay, sensitivity and specificity of method

For citation: Mustafayev A. R., Baratov M. O. Comparative assessment of immunodiffusion and enzyme-linked immunosorbent assay used for bovine leukosis diagnosis. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 52–56. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-52-56.

Conflict of interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

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

ВВЕДЕНИЕ

В современных условиях ведения животноводства постоянный контроль за перемещением скрыто инфицированного поголовья вирусом лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) в основном отсутствует. Несмотря на меры, направленные на борьбу с лейкозом крупного рогатого скота, вызываемым данным вирусом, заболевание имеет тенденцию к широкомасштабному распространению в мире, а также в субъектах Российской Федерации [1–5]. Основными причинами этого являются такие факторы, как несвоевременная сдача на убой инфицированных ВЛКРС животных, отсутствие оздоровительно-профилактических мероприятий, несвоевременное проведение диагностических исследований и т. д. Поэтому важное значение имеет ранняя диагностика с применением более чувствительных, высокоточных реакций и методов и т. д. [6–11].

В настоящее время во всех ветеринарных лабораториях, диагностических кабинетах, ветеринарных поликлиниках Республики Дагестан для диагностики лейкоза крупного рогатого скота в основном используют стандартную, отработанную реакцию иммунодиффузии (РИД). Преимуществом РИД является то, что стоимость исследования одной пробы в 5–7 раз меньше, чем выполненного другими методами. Также достоинством данной реакции является простота постановки, отсутствие необходимости в специальном оборудовании, что легко применимо в диагностических кабинетах, находящихся в отдаленных районах республики. Тем не менее РИД имеет ряд недостатков: неспецифические реакции, низкая чувствительность, длительность проведения реакции (48 ч), что подтверждается многими исследователями в области диагностики лейкоза крупного рогатого скота [12–14].

В связи с вышеупомянутыми недостатками РИД возникает необходимость провести диагностические исследования сыворотки крови животных на лейкоз крупного рогатого скота с применением иммуноферментного анализа (ИФА) и изучить эффективность обоих методов в сравнительном аспекте. В научно-исследовательских работах многими авторами приводятся данные о том, что ИФА является более чувствительным методом выявления специфических антител к антигену ВЛКРС, чем РИД [15–16]. Метод ИФА может быть при-

менен при проведении оздоровительно-профилактических мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота, так как возникает необходимость своевременного выявления инфицированного ВЛКРС поголовья в животноводческих хозяйствах [16–20].

Исходя из вышеизложенного, была поставлена цель провести сравнительный анализ тест-систем ИФА и РИД при исследовании сыворотки крови животных на выявление специфических антител к антигену ВЛКРС на основании методических указаний.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для диагностических исследований на лейкоз крупного рогатого скота с применением РИД и ИФА послужили пробы сыворотки крови животных, полученные из разных хозяйств Карабудахкентского, Кумторкалинского и Буйнакского районов, а также из г. Махачкалы и г. Каспияска.

Для проведения РИД использовали набор для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота, производителем которого является ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» (Россия). Данная тест-система предназначена для выявления в сыворотке крови животных антител к гликопротеидному антигену ВЛКРС путем преципитации в геле агара.

Для постановки ИФА применяли набор для выявления специфических антител к gp51 ВЛКРС в сыворотке или плазме крови и молоке крупного рогатого скота в индивидуальных и сборных пробах производства ООО «Ветбиохим» (Россия).

Все диагностические исследования проводили согласно «Методическим указаниям по диагностике лейкоза крупного рогатого скота»¹.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 2022 г. в условиях лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД» на лейкоз крупного рогатого скота в РИД были проведены диагностические исследования 440 проб сыворотки

¹ Методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота: утв. Департаментом ветеринарии МСХ РФ 23.08.2000 № 137-2/2130. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200118749>.

Таблица

Результаты диагностических исследований проб сыворотки крови животных, полученных из хозяйств Республики Дагестан, на лейкоз крупного рогатого скота с применением РИД и ИФА

Table

Results of diagnostic tests of animal serum samples submitted from farms of the Republic of Dagestan for bovine leukosis with immunodiffusion and ELISA

Районы и городские округа	Исследовано в РИД			Исследовано в ИФА		
	количество проб	РИД (+)	%	из РИД (–)	из РИД (+)	ИФА (+)
Кумторкалинский	127	17	13,4	48	2	3 (+1)
Карабудахкентский	122	8	6,6	29	1	3 (+2)
Буйнакский	89	5	5,6	8	2	2
г. Махачкала	56	4	7,1	5	0	1 (+1)
г. Каспийск	46	3	6,5	5	0	0
Всего	440	37	8,4	100 (95 + 5)		9 (9,0%)

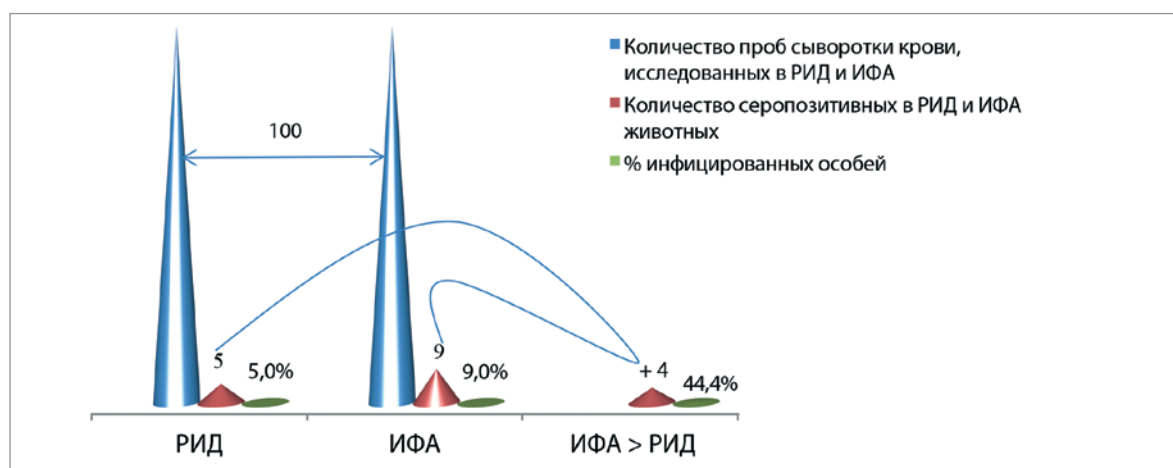


Рис. Результаты серологических исследований проб сыворотки крови животных на наличие антител к ВЛКРС методами РИД и ИФА в сравнительном аспекте

Fig. Comparative assessment of the results of immunodiffusion and ELISA tests of animal serum samples for antibodies against bovine leukaemia virus

крови животных. Из них 37 оказались сероположительными к ВЛКРС, что составило 8,4% от числа исследованного поголовья. Данные пробы сыворотки крови крупного рогатого скота были получены из следующих районов и городских округов: Кумторкалинского – 127, Карабудахкентского – 122, Буйнакского – 89, г. Махачкалы – 56 и г. Каспийска – 46. Серопозитивность в этих районах и городах составила 17 (13,4%), 8 (6,6%), 5 (5,6%), 4 (7,1%), 3 (6,5%) соответственно (табл.).

На следующем этапе для исследования методом ИФА из 440 проб сывороток крови крупного рогатого скота было отобрано 100 проб с различным серологическим статусом в РИД: из Кумторкалинского района – 50 (48/2), Карабудахкентского – 30 (29/1), Буйнакского – 10 (8/2), г. Махачкалы – 5 (5/0), а также г. Каспийска – 5 (5/0). В результате с помощью ИФА в 4 пробах, которые в РИД были определены как отрицательные, выявлены специфические антитела к gp51 ВЛКРС. При этом во всех РИД-позитивных пробах сывороток крови методом ИФА также были обнаружены специфические антитела к антигену ВЛКРС.

Таким образом, в общей сложности в ИФА было выявлено 9 вирусоносителей, что на 44,4% больше, чем обнаружено с помощью РИД (рис.).

Результаты, представленные в таблице и на рисунке, свидетельствуют о том, что ИФА является более чувствительным методом. Следует отметить, что при постановке иммуноферментного анализа в некоторых сыворотках крови животных наблюдали неспецифические реакции и 6 проб оценены как сомнительные. Возможно, это связано с тем, что ИФА имеет ряд ограничений, например, гемолизированные и загрязненные сыворотки крови животных непригодны для исследования, также недопустимо их многократное замораживание и оттаивание. Однако метод имеет ряд преимуществ при диагностике лейкоза крупного рогатого скота: высокую чувствительность в выявлении специфических антител к gp51 ВЛКРС, быстрое получение результатов, использование минимального количества испытуемого материала (4 мкл сыворотки крови). К основным недостаткам ИФА можно отнести высокую стоимость диагностического набора, а также необходимость наличия в лаборатории спектрофотометра (ридера) для измерения оптической плотности с длиной волны 450 нм.

Исходя из вышеизложенного, можно сделать вывод, что ИФА в сравнении с РИД характеризуется более высокой чувствительностью и позволяет дополнительно выявлять животных, инфицированных ВЛКРС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При сравнении двух методов диагностики лейкоза крупного рогатого скота ИФА показал более высокие показатели специфичности и чувствительности, чем РИД. При проведении исследований 100 проб сывороток крови крупного рогатого скота в ИФА было выявлено 9 животных-вирусоносителей, при этом в РИД позитивными были только 5 проб. То есть количество дополнительно выявленных при помощи ИФА положительно реагирующих животных составило 44,4%. Такой высокий процент, возможно, связан с малым размером выборки проб сыворотки крови крупного рогатого скота из числа исследованных с помощью РИД. При проведении массовых исследований поголовья на лейкоз крупного рогатого скота методом ИФА процент выявляемости инфицированных ВЛКРС животных, вероятно, будет ниже и станет находиться в пределах от 15 до 30%, как показано в научных работах других исследователей [11, 18].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гулюкин М. И., Барабанов И. И., Иванова Л. А., Степанова Т. В., Козырева Н. Г., Симонян Г. А. и др. Мониторинг эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в товарных и племенных хозяйствах Российской Федерации за 2014–2015 годы. *Ветеринария и кормление*. 2016; 4: 5–41. eLIBRARY ID: 26383305.
2. Мустафаев А. Р. Эпизоотическая обстановка по энзоотическому лейкозу крупного рогатого скота в общественных и индивидуальных хозяйствах Республики Дагестан. *Ветеринария сегодня*. 2021; (2): 144–150. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-144-150.
3. Мищенко В. А., Петрова О. Н., Караулов А. К., Мищенко А. В. Проблема лейкоза крупного рогатого скота в Российской Федерации. *БИО*. 2018; 3 (210): 26–29; 4 (211): 24–28. eLIBRARY ID: 35562339; eLIBRARY ID: 35562349.
4. Мустафаев А. Р., Гулюкин М. И., Салихов Ю. С. Мониторинг по распространению вируса лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан за 2018 год. *Ветеринария и кормление*. 2019; 4: 18–20. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-4-5.
5. Gillet N., Florins A., Boxus M., Burteau C., Nigro A., Vandermeers F., et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel antiretroviral therapies in human. *Retrovirology*. 2007; 4: 18. DOI: 10.1186/17424690418.
6. Мустафаев А. Р., Будулов Н. Р., Шихрагимов Э. М., Салихов Ю. С., Гайдарбекова Х. М. Оздоровительные мероприятия против лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Республике Дагестан. *Ветеринария*. 2015; 1: 23–26. eLIBRARY ID: 23057434.
7. Rodríguez S. M., Florins A., Gillet N., de Brogniez A., Sánchez-Alcaraz M. T., Boxus M., et al. Preventive and therapeutic strategies for bovine leukemia virus: lessons for HTLV. *Viruses*. 2011; 3 (7): 1210–1248. DOI: 10.3390/v3071210.
8. Yu C., Wang X., Zhou Y., Wang Y., Zhang X., Zheng Y. Genotyping bovine leukemia virus in dairy cattle of Heilongjiang, northeastern China. *BMC Vet. Res.* 2019; 15 (1): 179. DOI: 10.1186/s12917-019-1863-3.
9. Осипова Н. А., Агаркова Т. А., Двоеглазов Н. Г., Храмов В. В. Оценка эффективности комплексов противовирусных мероприятий в сельскохозяйственных предприятиях. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2019; 49 (5): 73–79. DOI: 10.26898/0370-8799-2019-5-10.
10. Двоеглазов Н. Г., Агаркова Т. А. Некоторые особенности оздоровительных мероприятий от инфекции вируса лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах с применением реакции иммунодиффузии и иммуноферментного анализа. *Ветеринарный врач*. 2010; 1: 22–24. eLIBRARY ID: 14477218.
11. Trono K. G., Pérez-Filgueira D. M., Duffy S., Borca M. V., Carrillo C. Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. *Vet. Microbiol.* 2001; 83 (3): 235–248. DOI: 10.1016/S0378-1135(01)00420-5.
12. Choi K. Y., Liu R. B., Buehring G. C. Relative sensitivity and specificity of agar gel immunodiffusion, enzyme immunoassay, and immunoblotting for detection of anti-bovine leukemia virus antibodies in cattle. *J. Virol. Methods*. 2002; 104 (1): 33–39. DOI: 10.1016/S0166-0934(02)00040-X.
13. Klintevall K., Näslund K., Svedlund G., Hajdu L., Linde N., Klingeborn B. Evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies to bovine leukaemia virus in milk and serum. *J. Virol. Methods*. 1991; 33 (3): 319–333. DOI: 10.1016/0166-0934(91)90032-U.
14. Wu D., Takahashi K., Murakami K., Tani K., Koguchi A., Asahina M., et al. B-1a, B-1b and conventional B cell lymphoma from enzootic bovine leukosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1996; 55 (1–3): 63–72. DOI: 10.1016/S0165-2427(96)05631-0.
15. Мустафаев А. Р. Конъюнктура заболеваемости лейкозом крупного рогатого скота на территории Республики Дагестан за 2021 год. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 216–221. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-216-221.
16. Байсеитов С. Т., Новикова Н. Н., Власенко В. С., Красиков А. П. Сравнительная оценка диагностической эффективности РИД, ИФА и РНИФ при лейкозе крупного рогатого скота. *Вестник Омского ГАУ*. 2020; 1 (37): 97–102. eLIBRARY ID: 42742073.
17. Двоеглазов Н. Г., Храмов В. В., Агаркова Т. А., Осипова Н. А. Сравнительный анализ применения ИФА и РИД при диагностике лейкоза крупного рогатого скота. *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки*. 2015; (1): 89–93. eLIBRARY ID: 23059914.
18. Донник И. М., Пономарева О. И., Кривонос Р. А., Лысенко А. А., Коцаев А. Г., Черных О. Ю. и др. Ликвидация лейкоза крупного рогатого скота в условиях промышленного производства. *Ветеринария Кубани*. 2021; 2: 3–8. DOI: 10.33861/2071-8020-2021-2-3-8.
19. Донник И. М., Гулюкин М. И., Бусол В. А., Коваленко Л. В., Коваленко А. М. Лейкоз крупного рогатого скота – диагностика, оздоровление, антропоонозный потенциал (история вопроса) (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2021; 2 (56): 230–244. DOI: 10.15389/agrobio-logy.2021.2.230rus.
20. Nekoei S., Hafshejani T. T., Doosti A., Khamesipour F. Molecular detection of bovine leukemia virus in peripheral blood of Iranian cattle, camel and sheep. *Pol. J. Vet. Sci.* 2015; 18 (4): 703–707. DOI: 10.1515/pjvs-2015-0091.

REFERENCES

1. Gulykin M., Barabanov I., Ivanova L., Stepanova T., Kozireva N., Simonian G., et al. Monitoring of epidemiologic situation with bovine leukemia in production and breeding herds of Russian Federation in 2014–2015. *Veterinaria i kormlenie*. 2016; 4: 5–41. eLIBRARY ID: 26383305. (in Russ.)
2. Mustafayev A. R. Epidemic situation on enzootic bovine leukosis in public and individual farms in the Republic of Dagestan. *Veterinary Science Today*. 2021; (2): 144–150. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-144-150.
3. Mischenko V. A., Petrova O. N., Karaulov A. K., Mischenko A. V. Problem of bovine leukosis in the Russian Federation. *BIO*. 2018; 3 (210): 26–29; 4 (211): 24–28. eLIBRARY ID: 35562339; eLIBRARY ID: 35562349. (in Russ.)
4. Mustafayev A. R., Gulykin M. I., Salikhov Yu. S. Monitoring of the spread of the bovine leukemia virus in the Republic of Dagestan in 2018. *Veterinaria i kormlenie*. 2019; 4: 18–20. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-4-5. (in Russ.)
5. Gillet N., Florins A., Boxus M., Burteau C., Nigro A., Vandermeers F., et al. Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel antiretroviral therapies in human. *Retrovirology*. 2007; 4: 18. DOI: 10.1186/17424690418.
6. Mustafayev A. R., Budulov N. R., Shikhragimov E. M., Salihov U. S., Gaidarbekova Kh. M. Improving measures against bovine leukemia on the sample of farms of the Dagestan Republic. *Veterinaria*. 2015; 1: 23–26. eLIBRARY ID: 23057434. (in Russ.)
7. Rodríguez S. M., Florins A., Gillet N., de Brogniez A., Sánchez-Alcaraz M. T., Boxus M., et al. Preventive and therapeutic strategies for bovine leukemia virus: lessons for HTLV. *Viruses*. 2011; 3 (7): 1210–1248. DOI: 10.3390/v3071210.
8. Yu C., Wang X., Zhou Y., Wang Y., Zhang X., Zheng Y. Genotyping bovine leukemia virus in dairy cattle of Heilongjiang, northeastern China. *BMC Vet. Res.* 2019; 15 (1): 179. DOI: 10.1186/s12917-019-1863-3.
9. Osipova N. A., Agarkova T. A., Dvoeglazov N. G., Khramtsov V. V. Estimation of efficiency of comprehensive anti-leukemia measures in agricultural enterprises. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2019; 49 (5): 73–79. DOI: 10.26898/0370-8799-2019-5-10. (in Russ.)
10. Dvoeglazov N. G., Agarkova T. A. Some features of sanitation measures against cattle leukosis viral infection using immunodiffusion test and ALISA. *Veterinarian*. 2010; 1: 22–24. eLIBRARY ID: 14477218. (in Russ.)
11. Trono K. G., Pérez-Filgueira D. M., Duffy S., Borca M. V., Carrillo C. Seroprevalence of bovine leukemia virus in dairy cattle in Argentina: comparison of sensitivity and specificity of different detection methods. *Vet. Microbiol.* 2001; 83 (3): 235–248. DOI: 10.1016/S0378-1135(01)00420-5.
12. Choi K. Y., Liu R. B., Buehring G. C. Relative sensitivity and specificity of agar gel immunodiffusion, enzyme immunoassay, and immunoblotting for detection of anti-bovine leukemia virus antibodies in cattle. *J. Virol. Methods*. 2002; 104 (1): 33–39. DOI: 10.1016/S0166-0934(02)00040-X.
13. Klintevall K., Näslund K., Svedlund G., Hajdu L., Linde N., Klingeborn B. Evaluation of an indirect ELISA for the detection of antibodies to bovine leukaemia virus in milk and serum. *J. Virol. Methods*. 1991; 33 (3): 319–333. DOI: 10.1016/0166-0934(91)90032-U.

14. Wu D., Takahashi K., Murakami K., Tani K., Koguchi A., Asahina M., et al. B-1a, B-1b and conventional B cell lymphoma from enzootic bovine leukosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 1996; 55 (1–3): 63–72. DOI: 10.1016/S0165-2427(96)05631-0.
15. Mustafayev A. R. Bovine leukosis incidence in Republic of Dagestan in 2021. *Veterinary Science Today.* 2022; 11 (3): 216–221. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-216-221.
16. Bajseitov S. T., Novikova N. N., Vlasenko V. S., Krasikov A. P. Comparative evaluation of diagnostic efficiency of immunodiffusion reaction (IDR), ELISA and indirect reaction of immunofluorescence (IIR) for cattle leukemia. *Vestnik of Omsk SAU.* 2020; 1 (37): 97–102. eLIBRARY ID: 42742073. (in Russ.)
17. Dvoeglazov N. G., Khramtsov V. V., Agarkova T. A., Osipova N. A. Comparative analysis of application of ELISA and AGID in diagnosing bovine leukosis. *Siberian Herald of Agricultural Science.* 2015; (1): 89–93. eLIBRARY ID: 23059914. (in Russ.)
18. Donnik I. M., Ponomareva O. I., Krivonos R. A., Lysenko A. A., Koshchaev A. G., Chernykh O. Yu., et al. Elimination of bovine leukemia in industrial production conditions. *Veterinaria Kubani.* 2021; 2: 3–8. DOI: 10.33861/2071-8020-2021-2-3-8. (in Russ.)
19. Donnik I. M., Gulyukin M. I., Busol V. A., Kovalenko L. V., Kovalenko A. M. Bovine leukemia virus infection — diagnostics, eradication, and anthroponotic potential (background) (review). *Agricultural Biology.* 2021; 2 (56): 230–244. DOI: 10.15389/agrobiology.2021.2.230eng.
20. Nekoei S., Hafshejani T. T., Doosti A., Khamesipour F. Molecular detection of bovine leukemia virus in peripheral blood of Iranian cattle, camel and sheep. *Pol. J. Vet. Sci.* 2015; 18 (4): 703–707. DOI: 10.1515/pjvs-2015-0091.

Поступила в редакцию / Received 20.12.2022

Поступила после рецензирования / Revised 12.01.2023

Принята к публикации / Accepted 20.01.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мустафаев Аркиф Рамазанович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия;
<http://orcid.org/0000-0002-5142-8360>,
e-mail: mustafaev_arkif@mail.ru.

Баратов Магомед Омарович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией инфекционной патологии сельскохозяйственных животных, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-8261-5038>,
e-mail: alama500@rambler.ru.

Arkif R. Mustafayev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Infectious Pathology of Farm Animals, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia;
<http://orcid.org/0000-0002-5142-8360>,
e-mail: mustafaev_arkif@mail.ru.

Magomed O. Baratov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Head of Laboratory of Infectious Pathology of Farm Animals, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia;
<https://orcid.org/0000-0002-8261-5038>,
e-mail: alama500@rambler.ru.

Пространственно-временной анализ распространения африканской чумы свиней в популяции диких кабанов на территории Российской Федерации в 2007–2022 гг.

О. И. Захарова¹, А. А. Блохин¹, О. А. Бурова¹, И. В. Яшин¹, Ф. И. Коренной²

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

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

РЕЗЮМЕ

Африканская чума свиней является трансграничной болезнью всех представителей семейства *Suidae*, приносящей экономический ущерб свиноводческой отрасли и экологии кабана как вида. Эпизоотология африканской чумы свиней сложна и определяется механизмами передачи возбудителя в популяциях восприимчивых животных. Выбор мер борьбы и предупреждения распространения заболевания в популяции кабанов зависит в основном от путей заноса, стадии или фазы эпизоотического процесса. Предотвращение заноса вируса африканской чумы свиней из неблагополучного региона в благополучный является основой профилактики инфекции. В связи с этим целью исследований явился пространственно-временной анализ очагов африканской чумы свиней в популяции кабанов в Российской Федерации в 2007–2022 гг. и обозначение географических территорий, представляющих риск возникновения новых эпизоотий. Анализ проведен с помощью ретроспективной статистики пространственно-временного сканирования, которая не требует данных о численности популяции кабана и которую можно использовать для оценки возможного возникновения новых очагов африканской чумы свиней, когда доступны только данные о зарегистрированных случаях или очагах болезни. При выполнении пространственно-временного кластерного анализа было выявлено 24 кластера очагов африканской чумы свиней, зарегистрированных на основании лабораторно подтвержденных данных об инфицировании кабанов, найденных мертвыми, и 22 кластера – кабанов, добытых на охоте. Результаты проведенного анализа продемонстрировали пространственную неоднородность распределения кластеров очагов инфекции в популяции кабанов, павших от болезни, а также существенное расширение географического охвата территории вследствие применения пассивного мониторинга. Показана важность и необходимость проведения усиленного пассивного мониторинга африканской чумы свиней среди восприимчивых животных. Предлагаемый метод можно использовать для регулярного сканирования географического региона на вероятность формирования зон и территорий риска новых вспышек африканской чумы свиней в популяции дикого кабана на территориях различного пространственного масштаба.

Ключевые слова: африканская чума свиней, кластерный анализ, достоверность, кабан, мониторинг, относительный риск

Благодарность: Работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» FGNM-2021-0003.

Для цитирования: Захарова О. И., Блохин А. А., Бурова О. А., Яшин И. В., Коренной Ф. И. Пространственно-временной анализ распространения африканской чумы свиней в популяции диких кабанов на территории Российской Федерации в 2007–2022 гг. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 57–65. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-57-65.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Захарова Ольга Игоревна, научный сотрудник отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, 603950, Россия, г. Нижний Новгород, ул. Ветеринарная, д. 3, e-mail: olenka.zakharova.1976@list.ru.

Spatiotemporal analysis of African swine fever spread in wild boar population in Russian Federation, 2007–2022

O. I. Zakharova¹, A. A. Blokhin¹, O. A. Burova¹, I. V. Yashin¹, F. I. Korennoy²

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

² FGBI “Federal Centre for Animal Health” (FGBI “ARRIAH”), Vladimir, Russia

SUMMARY

African swine fever is a transboundary disease of all members of *Suidae* family and it causes economic damage to the pig industry and ecology of wild boar as a species. The ASF epidemiology is complex and it is specified by the mechanisms of the agent's transmission in susceptible animal populations. Choice of measures aimed to control and prevent the disease spread in the wild boar population depends mainly on the routes of the disease introduction and stage or phase of the epizootic process. Prevention of the ASFV introduction from an infected region to a free one is the backbone in the infection prevention. Therefore, the research

© Захарова О. И., Блохин А. А., Бурова О. А., Яшин И. В., Коренной Ф. И., 2023

was aimed at the spatiotemporal analysis of African swine fever outbreaks in the wild boar population in the Russian Federation in 2007–2022 and identification of geographical areas that pose risk of new disease epidemics. The analysis was performed using retrospective space-time scan statistics, which does not require data on the wild boar population and which can be used for the assessment of the possibility of new ASF outbreak occurrence upon availability of just data on the reported disease cases and outbreaks. As a result of spatiotemporal cluster analysis, 24 clusters of ASF outbreaks were identified based on the laboratory-confirmed data on the infection in boars found dead, and 22 clusters in hunted wild boars. The analysis results demonstrated spatial heterogeneity of the outbreak cluster distribution in population of wild boars died of the disease and a significant expansion of the passive surveillance geography. Importance and necessity of the enhanced passive surveillance of African swine fever in susceptible animals is demonstrated. The proposed method can be used for regular scanning of a geographic region for the presence of developing zones and areas at risk of re-emerging ASF outbreaks in the wild boar population at different spatial scales.

Keywords: African swine fever, cluster analysis, confidence, wild boar, surveillance, relative risk

Acknowledgement: The study was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation in the framework of the State Assignment of the Federal Research Center for Virology and Microbiology FGNM-2021-0003.

For citations: Zakharova O. I., Blokhin A. A., Burova O. A., Yashin I. V., Korennoy F. I. Spatiotemporal analysis of African swine fever spread in wild boar population in Russian Federation, 2007–2022. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 57–65. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-57-65.

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

For correspondence: Olga I. Zakharova, Researcher, Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, 603950, Russia, Nizhny Novgorod, ul. Veterinarnaya, 3, e-mail: olenka.zakharova.1976@list.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Африканская чума свиней (АЧС) – вирусная контагиозная болезнь, поражающая домашних свиней и диких кабанов, приносящая значительный ущерб свиноводческой отрасли и экологии вида в целом. Эпизоотология АЧС сложна и определяется механизмами передачи ее возбудителя в популяциях восприимчивых животных [1–3]. В отличие от успешной борьбы с АЧС у домашних свиней, которая достигается путем одноmomentной (stamping out) выбраковки всего поголовья фермы, последующей очистки и дезинфекции контактированных помещений, ликвидация болезни в популяции диких кабанов является сложной задачей [4]. Не существует стандартной стратегии контроля за эпизоотическим процессом, которую можно было бы применить на всех неблагополучных по АЧС территориях, из-за разных географических и региональных особенностей среды обитания популяций диких кабанов [5, 6]. Меры по предупреждению заноса вируса АЧС из неблагополучного региона в благополучный являются предпочтительным вариантом стандартных мер профилактики [7, 8].

Роль дикого кабана и плотности его популяции как фактора распространения вируса АЧС является во многом спорной и вызывает много дискуссий в научном мире. Взгляды многих ученых и международных экспертов сходятся в одном: такая предупредительная мера, как сокращение численности диких кабанов, снижает риск заноса и распространения вируса АЧС как на территории очага, так и в зоне наблюдения [7, 9].

Исследования по изучению распространения АЧС в популяции диких кабанов в странах Восточной Европы показали, что болезнь может сохраняться даже при очень низком уровне превалентности и плотности популяции диких животных, если не проводится своевременная элиминация инфицированных трупов животных и их останков [10–12].

Выбор мер борьбы и предупреждения распространения АЧС в популяции кабанов зависит в основном от путей заноса, стадии или фазы развития эпизоотического процесса. Также немаловажным фактором в выборе предупредительных мер при АЧС является статус территории, то есть состояние, фиксируемое в момент регистрации очага: благополучная, ранее неблагополучная, не прилегающая к очагу территория – зона наблюдения. Раннее обнаружение инфицированных особей кабанов является важным звеном в стратегии по борьбе с данной инфекцией [13].

Методы обнаружения мест повышенной концентрации (кластеров) очагов болезней играют значимую роль в современных эпидемиологических и эпизоотологических исследованиях, а также в практике как общественного здравоохранения, так и профилактической ветеринарной медицины. Их использование позволяет выявить возможные этиологические и патогенетические причины возникающих эпидемий и эпизоотий, а также выбрать основные пути решения для ликвидации инфекций [14].

Временная, пространственная и пространственно-временная статистика сканирования [15–21] в настоящее время широко используется для определения и оценки кластеров различных болезней, включая как инфекции людей и животных, так и незаразную патологию [18, 19].

Большинство аналитических методов в эпизоотологии, используемых для раннего выявления случаев болезней животных, носят чисто временной характер. Эти методы полезны для фиксации очагов, которые одновременно охватывают все участки региона, за которым ведется наблюдение, но могут запаздывать при возникновении локальных эпизоотий, которые ограничиваются определенной географической областью. Хотя чисто временные методы могут использоваться параллельно для всех перекрывающихся частей территории региона различной площади, чтобы охватить

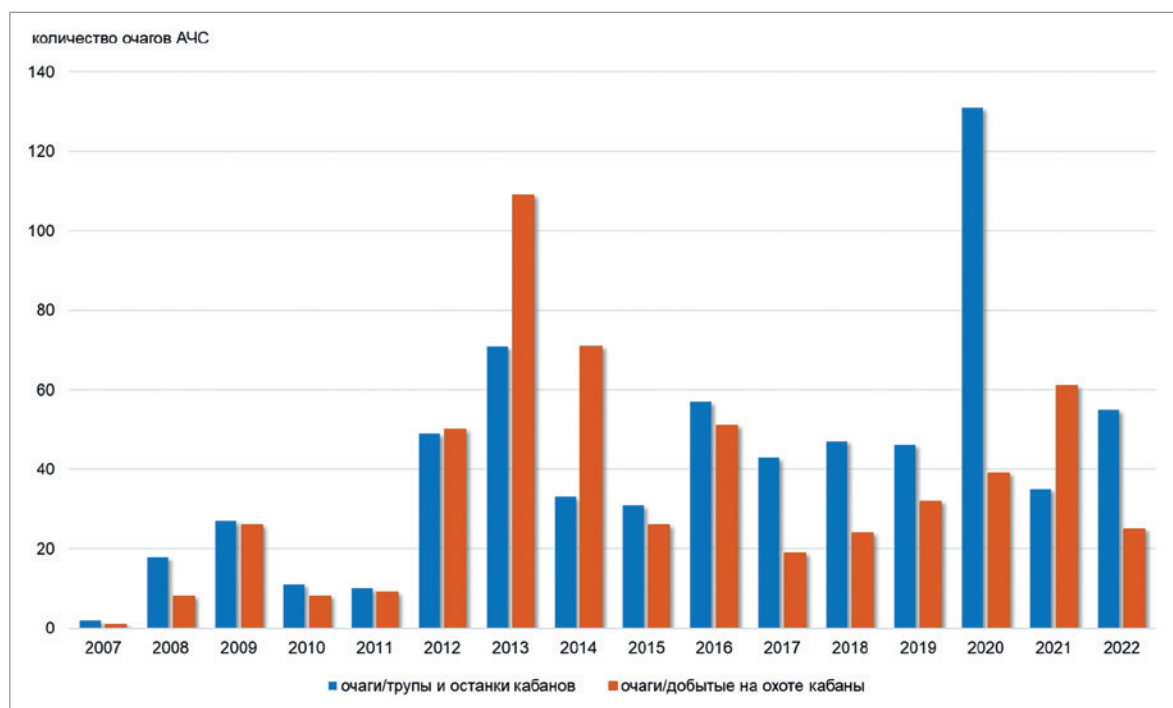


Рис. 1. Динамика регистрации очагов АЧС в популяции дикого кабана (трупы и останки – N = 592; добытые на охоте – N = 562)

Fig. 1. History of ASF outbreaks reported in the wild boar population (dead animals and remnants thereof – N = 592; hunted animals – N = 562)

все возможные случаи, формирующие очаги болезней. Но такой подход приводит к серьезной проблеме, поскольку предполагает многократное лабораторное тестирование, которое дает гораздо больше ложных результатов, чем может показать номинальный уровень статистической значимости [22, 23].

В этой работе представлена ретроспективная статистика пространственно-временного сканирования, которая не требует данных о численности популяции кабана на территориях, подверженных риску возникновения АЧС, и которую можно использовать при наличии только информации о зарегистрированных, выявленных при исследовании биоматериала от найденных трупов (или останков) и добытых в результате охоты животных. Этот метод можно применять для регулярного сканирования географического региона различного пространственного масштаба с целью определения зон и территорий риска по АЧС в популяции дикого кабана. Для каждого региона данный метод рассматривает потенциальные однодневные, а также периодически регистрирующиеся очаги болезни, чтобы можно было обнаруживать быстро распространяющуюся эпизоотию [20–23]. Поэтому целью исследований было проведение пространственно-временного анализа очагов АЧС и определение тенденции распространения инфекции в популяции диких кабанов на территории неблагополучных субъектов Российской Федерации с возможным обозначением географических территорий, представляющих риск для возникновения локальных эпизоотий.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Собственные исследования включали ретроспективный анализ данных о зарегистрированных очагах АЧС в популяции дикого кабана, которые были взяты

из официальной отчетности ФГБУ «Центр ветеринарии» (г. Москва)¹. Под очагом понимаем территорию, в пределах которой обнаружены инфицированные вирусом АЧС дикие кабаны, обозначенную географическими координатами и официально нотифицированную ветеринарной службой субъекта. В свою очередь, отдельное животное (либо туша) рассматривается как случай². Информация по зарегистрированным очагам АЧС среди кабанов, выявленным как в результате пассивного мониторинга, так и охоты, охватывала период с 2007 по 2022 г.

Пространственно-временной анализ проводили исходя из общего количества очагов АЧС среди диких кабанов в разрезе неблагополучных субъектов Российской Федерации. Основой кластерного анализа является пространственно-временная статистика сканирования Куллдорфа [24]. Данный метод позволяет идентифицировать кластеры изучаемой географической области, где очаги АЧС (или исследуемый феномен) были сгруппированы более плотно, чем можно было бы ожидать согласно нулевой гипотезе, предполагающей их случайное распределение. В анализе используется цилиндрическое движущееся окно сканирования, где вертикальное измерение представляет время. В качестве входных данных исследуются точечные объекты – очаги АЧС, к каждому из которых привязана информация о количестве случаев.

Результатом пространственно-временного кластерного анализа являются кольцевые области (кластеры),

¹ ФГБУ «Центр ветеринарии». Эпизоотическая обстановка. Режим доступа: <https://xn----8sbfkavba6bf4aedue4d.xn--p1ai/o-nas/informatsiya/epizooticheskaya-obstanovka> (дата обращения: 23.01.2023).

² WOAH. Terrestrial Animal Health Code. Режим доступа: <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access> (дата обращения: 26.01.2023).

Таблица 1

Характеристика кластеров очагов АЧС, зарегистрированных в популяции кабанов, найденных мертвыми в субъектах Российской Федерации, 2007–2022 гг.

Table 1

Characteristics of ASF outbreak clusters in wild boars found dead in the Subjects of the Russian Federation, 2007–2022

Номер кластера	Радиус кластера, км	Наблюдаемое число очагов АЧС	Ожидаемое число очагов АЧС	ODE	Дата начала кластера	Дата конца кластера	Продолжительность кластера, дней	P-value
1	157,88	34	2,9	11,72	02.08.2015	23.07.2016	356	< 0,001
2	82,22	35	3,3	10,60	04.02.2018	25.05.2019	414	< 0,001
3	121,25	45	6,5	6,92	23.02.2020	24.10.2020	244	< 0,001
4	142,14	24	1,36	17,64	04.11.2007	10.10.2009	706	< 0,001
5	158,22	15	0,53	28,30	26.06.2011	04.08.2012	405	< 0,001
6	158,96	32	5,57	5,75	29.04.2012	06.12.2014	951	< 0,001
7	146,71	16	1,02	15,69	16.07.2017	18.11.2017	125	< 0,001
8	68,97	21	2,2	9,55	18.08.2019	22.02.2020	188	< 0,001
9	126,48	11	0,46	23,91	22.11.2009	21.08.2010	272	< 0,001
10	145,87	9	0,23	39,13	26.09.2021	22.01.2022	118	< 0,001
11	40,09	8	0,15	53,33	21.12.2014	28.03.2015	97	< 0,001
12	118,03	12	0,88	13,64	29.07.2018	28.09.2019	426	< 0,001
13	90,69	13	1,17	11,11	25.10.2020	03.04.2021	160	< 0,001
14	88,42	6	0,09	66,67	07.06.2020	25.07.2020	48	< 0,001
15	114,54	12	1,06	11,32	07.07.2013	31.08.2013	55	< 0,001
16	127,17	5	0,05	100,00	17.07.2022	23.07.2022	6	< 0,001
17	99,65	9	0,5	18,00	29.10.2017	07.07.2018	251	< 0,001
18	105,43	8	0,35	22,86	25.10.2020	12.12.2020	48	< 0,001
19	9,86	5	0,06	83,33	29.06.2014	19.07.2014	20	< 0,001
20	79,69	7	0,35	20,00	29.09.2019	28.12.2019	90	< 0,001
21	68,13	5	0,11	45,45	24.11.2013	08.03.2014	104	< 0,001
22	2,11	3	0,02	150,00	07.01.2018	13.01.2018	6	< 0,001
23	21,14	5	0,15	33,33	28.08.2016	10.12.2016	104	< 0,001
24	159,34	12	1,97	6,09	13.09.2020	05.02.2022	510	< 0,001

ODE – отношение наблюдаемого количества к ожидаемому числу очагов АЧС внутри кластера при условии соответствия распределения нулевой гипотезе, то есть значение показателя определяет относительный риск возникновения новых очагов внутри кластера.

ODE – observed/expected (this is the ratio of the observed number to the expected number of ASF outbreaks within the cluster, given that the distribution is consistent with the null hypothesis, i.e. the value of the indicator determines the relative risk of new outbreaks within the cluster).

в пределах которых обнаружена повышенная (по сравнению с гипотетическим случайным распределением) концентрация очагов АЧС. Дополнительными характеристиками кластеров являются: радиус, дата начала и конца, продолжительность, статистическая значимость (*p*-value), отношение наблюдаемого количества очагов к ожидаемому внутри кластеров (ODE). Последнюю характеристику можно рассматривать как относительный риск возникновения очагов внутри кластера по сравнению с зарегистрированными очагами за его пределами. Для кластерного анализа использовали программу SaTScan v8.0³, для картографической визуализации полученных результатов применяли ArcMap 10.8.1 (Esri, США).

³ SaTScan™ v8.0: Software for the spatial and space-time scan statistics. 2009. Режим доступа: <https://www.satscan.org> (дата обращения: 23.01.2023).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ретроспективный анализ очагов АЧС в популяции дикого кабана в Российской Федерации в 2007–2022 гг. В настоящее время распространение АЧС среди популяции диких кабанов в регионах России происходит на небольших по площади территориях, таких как охотхозяйства, с сохранением стационарного потенциала болезни и формированием локальной энзоотичности. Энзоотический процесс в очагах АЧС, установленных на основании результатов лабораторных исследований материала, отобранного от найденных трупов и добытых на охоте кабанов в неблагополучных субъектах Российской Федерации, характеризуется спорадическими вспышками, локализованными на одних и тех же географических территориях. Динамика регистрации очагов АЧС в популяции дикого кабана представлена на рисунке 1.

Как видим, наблюдается положительная тенденция выявления инфекции как среди найденных мертвых

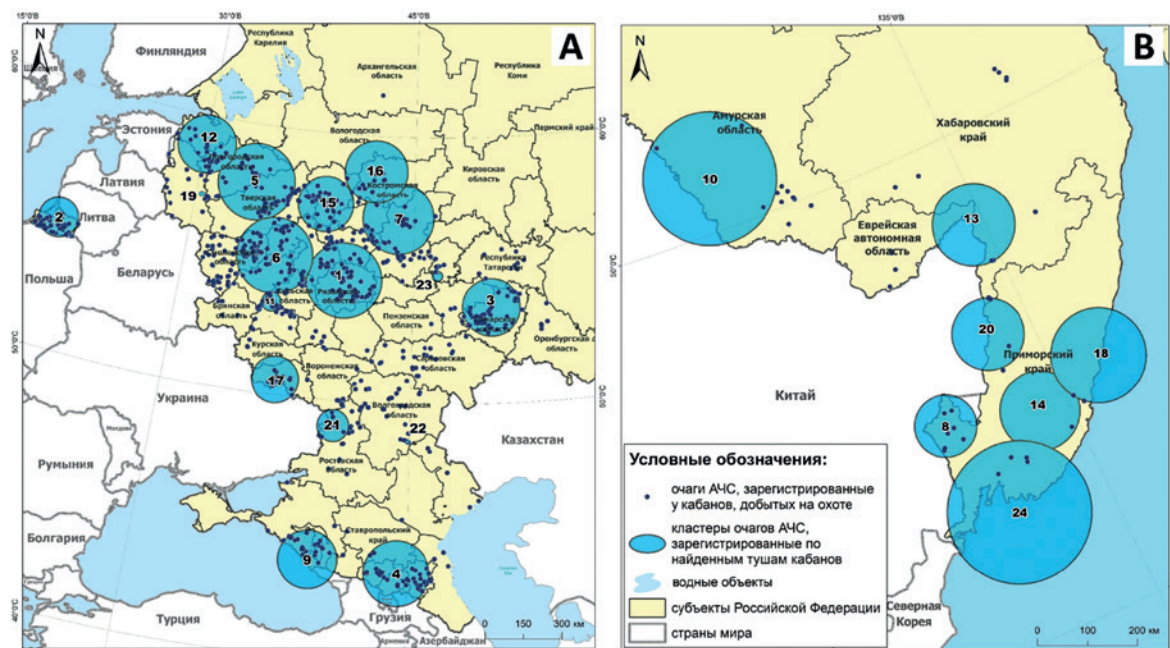


Рис. 2. Кластеры выявленных очагов АЧС, зарегистрированных в популяции диких кабанов (найденных мертвыми) в неблагополучных субъектах Российской Федерации: А – европейская часть; В – Дальний Восток (2007–2022 гг.)

Fig. 2. Clusters of detected ASF outbreaks reported in the wild boar population (found dead) in the ASF-infected regions of the Russian Federation: A – European part; B – Far East (2007–2022)

кабанов, так и особей, убитых на охоте. Такая тенденция, вероятно, обусловлена увеличением числа исследованных животных и улучшением организационно-ветеринарной деятельности по надзору в субъектах Российской Федерации⁴. Несмотря на это, существуют различия в количестве выявленных очагов АЧС среди кабанов, найденных мертвыми (51,3% от общего числа зарегистрированных), и диких свиней, убитых на охоте (48,7%).

Пространственно-временной анализ очагов АЧС в популяции дикого кабана на территории субъектов Российской Федерации в 2007–2022 гг. В результате кластерного анализа очагов АЧС, зарегистрированных в популяции диких кабанов, найденных мертвыми в неблагополучных субъектах РФ в период с 2007 по 2022 г., было обнаружено 24 достоверных кластера. Основные характеристики кластеров, полученные с помощью программы SaTScan, представлены в таблице 1.

Как видно из рисунка 2А, основное распределение кластеров очагов АЧС, выявленных по результатам исследования материала от трупов кабанов, отмечалось в центре европейской части России. Данные кластеры расположены в центральных и северо-западных субъектах европейской части РФ. На территории Дальнего Востока (рис. 2В) длительное неблагополучие и регистрация очагов АЧС обусловлены тем, что на некоторых участках Приморского края и близлежащих регионов в настоящее время еще сохраняется достаточно высокая плотность популяции дикого кабана (более 1 особи на 1000 га)⁵.

Проведенный пространственно-временной анализ показал, что наибольшую вероятность регистрации очагов АЧС в популяции диких кабанов, представляющих относительный риск распространения инфекции, представляют географические территории в следующих кластерах (табл. 1): № 11 (ОДЭ = 53,3), № 14 (ОДЭ = 65,67), № 16 (ОДЭ = 100,00), № 19 (ОДЭ = 83,33), № 22 (ОДЭ = 150,00). Наиболее длительными по продолжительности неблагополучия по АЧС отмечены кластеры № 2, 4, 6, 12, 24, на территории которых может происходить персистенция вируса в результате сохранения его в окружающей среде.

Пространственно-временной анализ очагов АЧС, зарегистрированных с 2007 по 2022 г. в результате детекции возбудителя или антител к вирусу АЧС у добытых на охоте кабанов, выявил 22 достоверных кластера. Основные их характеристики приведены в таблице 2. По результатам данного анализа было определено, что наибольшую вероятность возникновения новых эпизодов АЧС (относительный риск) представляют географические территории в следующих кластерах: № 9 (ОДЭ = 66,67), № 11 (ОДЭ = 71,43), № 13 (ОДЭ = 35,29), № 16 (ОДЭ = 50,00), № 20 (ОДЭ = 150,00), № 21 (ОДЭ = 57,14). Наиболее длительными по сохранению неблагополучия по АЧС являются кластеры № 4, 5, 10, 12, 14, 18, в радиусе которых в результате были сформированы локальные энзоотические территории в субъектах Дальнего Востока, Поволжья и центра европейской части РФ (рис. 3А и 3В).

В результате анализа кластеров очагов АЧС в популяции кабанов прослеживается устойчивая тенденция их распространения в пространстве и времени: начало эпизоотии наблюдалось на территориях Северо-Кавказского и Южного федеральных округов (южная зона) – кластеры № 4, 8, 11. В дальнейшем было отмечено смещение кластеров в центральные и северные

⁴ ФГБУ «Центр ветеринарии». Эпизоотическая обстановка. Режим доступа: <https://xn----8sbfcavba6bf4aedue4d.xn--p1ai/o-nas/informatsiya/epizooticheskaya-obstanovka> (дата обращения: 23.01.2023).

⁵ ФГБУ «ФНИЦ Охота». Состояние охотничьих ресурсов. Режим доступа: <http://www.ohotcontrol.ru/resource> (дата обращения: 23.01.2023).

Таблица 2

Характеристика кластеров очагов АЧС, зарегистрированных в популяции кабанов, добытых на охоте в неблагополучных регионах Российской Федерации, 2007–2022 гг.

Table 2

Characteristics of spatiotemporal ASF outbreak clusters reported in wild boars hunted in the infected regions of the Russian Federation, 2007–2022

Номер кластера	Радиус кластера, км	Наблюдаемое число очагов АЧС	Ожидаемое число очагов АЧС	ODE	Дата начала кластера	Дата конца кластера	Продолжительность кластера, дней	P-value
1	151,99	79	16,80	4,70	15.09.2013	24.05.2014	251	< 0,001
2	147,60	38	3,65	10,40	16.08.2015	30.07.2016	349	< 0,001
3	153,10	28	2,22	12,61	01.07.2012	23.03.2013	265	< 0,001
4	152,56	24	1,44	16,67	18.11.2007	02.01.2010	776	< 0,001
5	80,57	19	1,44	13,19	05.11.2017	18.05.2019	559	< 0,001
6	158,84	11	0,40	27,50	26.09.2021	30.10.2021	34	< 0,001
7	66,25	12	0,69	17,39	22.10.2017	28.04.2018	188	< 0,001
8	158,69	9	0,37	24,32	07.03.2010	19.02.2011	349	< 0,001
9	24,84	6	0,09	66,67	04.01.2015	07.02.2015	34	< 0,001
10	145,18	11	0,74	14,86	14.11.2021	19.11.2022	370	< 0,001
11	18,83	5	0,07	71,43	09.06.2013	22.06.2013	13	< 0,001
12	158,04	10	0,85	11,76	02.02.2020	20.02.2021	384	< 0,001
13	42,11	6	0,17	35,29	14.07.2019	19.10.2019	97	< 0,001
14	119,05	13	1,67	7,78	30.06.2019	02.01.2021	552	< 0,001
15	18,06	6	0,20	30,00	31.03.2013	20.07.2013	111	< 0,001
16	119,70	5	0,10	50,00	17.01.2021	04.03.2021	76	< 0,001
17	84,63	6	0,21	28,57	17.09.2017	16.12.2017	90	< 0,001
18	141,01	6	0,23	26,09	17.01.2010	12.02.2011	391	< 0,001
19	155,43	6	0,29	20,69	27.10.2019	18.01.2020	83	< 0,001
20	42,10	3	0,02	150,00	24.11.2019	30.11.2019	6	< 0,001
21	144,23	4	0,07	57,14	12.01.2020	07.03.2020	55	< 0,001
22	153,55	5	0,18	27,78	14.08.2016	12.11.2016	90	< 0,001

ODE – отношение наблюдаемого количества к ожидаемому числу очагов АЧС внутри кластера при условии соответствия распределения нулевой гипотезе, то есть значение показателя определяет относительный риск возникновения новых очагов внутри кластера.

ODE – observed/expected (this is the ratio of the observed number to the expected number of ASF outbreaks within the cluster, given that the distribution is consistent with the null hypothesis, i.e. the value of the indicator determines the relative risk of new outbreaks within the cluster).

области Российской Федерации – кластеры № 5, 10, 15, 17, 19, 22, 23, территории которых характеризуются более высокой плотностью популяции животных. В последние годы эпизоотия АЧС значительно расширила свои границы вплоть до Дальнего Востока, на территории которого за период с 2019 по 2022 г. было зарегистрировано значительное количество очагов АЧС среди кабанов.

ОБСУЖДЕНИЕ

Популяция диких кабанов играет немаловажную роль в эпизоотическом цикле АЧС как с точки зрения внутрипопуляционного распространения вируса, так и потенциально в его передаче домашним животным. Эпизоотологический надзор при АЧС у диких кабанов осуществляется путем тестирования всех особей, найденных больными или мертвыми, на наличие генома возбудителя или антител к вирусу АЧС в результате пассивного мониторинга либо тестированием всех добытых диких кабанов, то есть пойманных ловушками или загоном, а также отстрелянных в результате охоты или регулирования численности – активный мониторинг [2].

Информация, собранная Европейским агентством по безопасности пищевых продуктов (EFSA) из стран Балтии и Польши, указывает на то, что пассивный надзор обеспечивает более высокую вероятность раннего выявления АЧС. По данным многих зарубежных исследований АЧС среди диких кабанов были зарегистрированы при пассивном наблюдении [25–27].

Исследования по распространению АЧС в странах Восточной Европы показали, что болезнь может сохраняться при очень низкой превалентности среди восприимчивых животных, даже когда плотность популяции диких кабанов поддерживается на низком уровне благодаря интенсивной охоте. Однако, поскольку АЧС в популяции дикого кабана для многих стран Европы в настоящее время стала энзоотичной, вопрос о том, какой вид мониторинга (пассивный или активный) наиболее эффективен в целях обнаружения вируса при условии снижения процента распространенности и низкой плотности популяции, остается открытым. Особенно это важно, учитывая, что большинство стран, в том числе и Российская Федерация, пытаются ликвидиро-

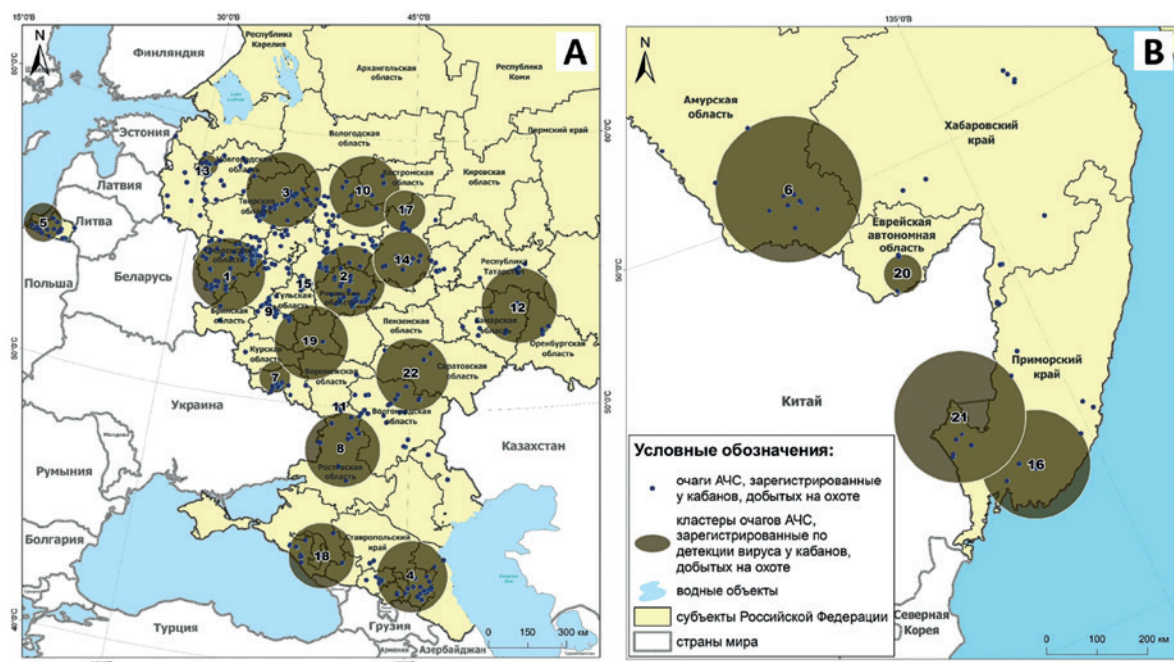


Рис. 3. Кластеры выявленных очагов АЧС, зарегистрированных в популяции диких кабанов (добытых на охоте) в неблагополучных регионах Российской Федерации: А – европейская часть; В – Дальний Восток (2007–2022 гг.)

Fig. 3. Clusters of detected ASF outbreaks reported in the wild boar population (hunted animals) in the ASF-infected regions of the Russian Federation: A – European part; B – Far East (2007–2022)

вать АЧС посредством прогрессивного управления популяцией, направленного на сокращение численности кабана [28, 29]. Даже при очень низкой плотности популяции существует окно неопределенности, когда АЧС все еще присутствует среди животных, но практически не обнаруживается, что усложняет любое дальнейшее управление, включая возможную стратегию искоренения болезни [30].

Учеными многих стран было высказано предположение, что инфекции животных, имеющие высокий процент летальных исходов, например такие, как АЧС, ведут к самоограничивающимся эпизоотиям, в результате которых происходит быстрое сокращение численности восприимчивой популяции за счет массовой гибели животных [31]. Чем стремительнее происходит распространение АЧС, тем быстрее это приводит к сокращению популяции дикого кабана. Если такая инфицированная популяция одновременно подвергается отстрелу в санитарных или рекреационных целях, то сокращение численности диких кабанов идет максимально быстро. В результате снижения численности животных число межвидовых контактов также уменьшается, и эпизоотия переходит в энзоотию. Зачастую на уровне охотничьего хозяйства исчезновение вируса АЧС становится очевидным. Но его повторное появление в течение нескольких месяцев после условного затишья является обычным явлением. Таким образом, эпизоотологический цикл АЧС у дикого кабана характеризуется сочетанием локальной энзоотичности с одновременным устойчивым географическим распространением в благополучные от болезни районы [6, 29, 32].

Интенсификация прямой передачи может также происходить эпизодически, после периода размножения животных, когда размер популяции животных удваивается, а подрастающие особи (2–6 месяцев) исследу-

ют среду обитания, увеличивая межвидовые контакты, а также при перегруппировке или скоплении животных на кормовых площадках [33–35].

В результате анализа литературных данных и собственных исследований всех зарегистрированных очагов инфекции был сделан вывод, что пассивный мониторинг обеспечивает большее количество выявлений АЧС, чем активный, а усилия по поиску останков трупов являются единственным параметром, который пропорционально увеличивает вероятность обнаружения инфицированных кабанов [34, 36]. Поэтому основные действия по предотвращению дальнейшего распространения АЧС в дикой фауне должны быть направлены на активный поиск мертвых животных и оповещение соответствующих ветеринарных органов, что имеет решающее значение для понимания эпизоотологической ситуации на любой из различных фаз эпизоотии АЧС, независимо от значений плотности популяции диких кабанов [37].

Кластеры очагов АЧС, обнаруженных при тестировании убитых на охоте кабанов, территориально расположены между собой преимущественно дискретно в виде неперекрывающихся географических локаций (рис. 3А и 3В), что говорит о равномерном распределении зарегистрированных очагов болезни, которые, предположительно, связаны с квотированием добычи животных.

Квоту добычи кабана рассчитывают на основании плотности и итоговой численности животных в соответствии с утвержденными нормативами допустимого изъятия и сопоставляют ее с указанной в заявке, представленной охотпользователями. Поэтому данные о возможной численности кабана или поддерживаются на постоянном уровне с целью сохранения и регулирования численности животных, или завышаются в интересах охотпользователей за счет увеличения числа запланированных квот.

Кластеры, сформированные очагами АЧС, установленными в результате исследования биоматериала от найденных мертвых животных (рис. 2А и 2В), в целом не совпадают с кластерами очагов, выявленных при тестировании добытых на охоте диких кабанов, что может свидетельствовать о циркуляции вируса АЧС на территориях, не охваченных охотой. Также это может говорить о ненаправлении всех проб от отстрелянных животных для лабораторных исследований, позднему обнаружению трупов кабанов и несвоевременной их утилизации владельцами/арендаторами охотугодий без проведения лабораторных исследований.

По данным ФГБУ «Центр ветеринарии» о числе зарегистрированных очагов АЧС, большинство павших от АЧС кабанов были найдены в летне-осенний период. По-видимому, данный факт можно связать с активной хозяйственной деятельностью человека, включая охоту. Пространственное и временное несовпадение кластеров, сформированных очагами АЧС в популяции кабанов, как павших от болезни, так и отстрелянных, может свидетельствовать об эффективности мер пассивного мониторинга, позволяющего выявлять существенно больше инфицированных животных и таким образом расширять географию территорий обнаружения АЧС.

Выявленные в результате пространственно-временного анализа непродолжительные кластеры очагов АЧС, зарегистрированных по найденным мертвым животным, указывают на сохранение в настоящее время возбудителя инфекции в популяции диких кабанов на территориях большинства неблагоприятных субъектов Российской Федерации. При этом относительный риск регистрации новых очагов АЧС внутри короткопериодных кластеров намного выше, чем у долговременных, предположительно, связанных с такими основными факторами риска распространения вируса АЧС, как хозяйственная деятельность человека, перемещение или миграция диких кабанов, а также низкий уровень биобезопасности на охоте.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показывают исследования, при ликвидации АЧС в дикой фауне на территории, длительно неблагоприятной по заболеванию, меры по предотвращению распространения болезни среди восприимчивых животных должны быть направлены на активный поиск, обнаружение и безопасное удаление (утилизацию) трупов (или останков) кабанов. Также следует осведомлять потенциально заинтересованные стороны (охотников, фермеров, ветеринарных специалистов) о важности данных мероприятий. Более того, необходимо последовательно сокращать численность кабана. С помощью пространственно-временного кластерного анализа выявлены локальные эпизоотии, изучены особенности их формирования с точки зрения распределения на группы очагов АЧС, зарегистрированных на основании диагностических исследований биоматериала от найденных трупов кабанов или их останков, а также особей, добытых на охоте. Знание выявленных тенденций и закономерностей распространения АЧС в популяции кабана дает возможность для совершенствования проводимых мероприятий в пределах территориальных границ зоны риска распространения и возникновения эпизоотий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- De la Torre A., Bosch J., Sánchez-Vizcaíno J. M., Ito S., Muñoz C., Iglesias I., Martínez-Avilés M. African swine fever survey in a European context. *Pathogens*. 2022; 11 (2):137. DOI: 10.3390/pathogens11020137.
- EFSA, Baños J. V., Boklund A., Gogin A., Gortázar Ch., Guberti V., et al. Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union (September 2020 to August 2021). *EFSA J.* 2022; 20 (5):e07290. DOI: 10.2903/j.efsa.2022.7290.
- Sauter-Louis C., Conraths F. J., Probst C., Blohm U., Schulz K., Sehl J., et al. African swine fever in wild boar in Europe – a review. *Viruses*. 2021; 13 (9):1717. DOI: 10.3390/v13091717.
- Dixon L. K., Stahl K., Jori F., Vial L., Pfeiffer D. U. African swine fever epidemiology and control. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 2020; 8: 221–246. DOI: 10.1146/annurev-animal-021419-083741.
- Pepin K. M., Golnar A. J., Abdo Z., Podgórski T. Ecological drivers of African swine fever virus persistence in wild boar populations: Insight for control. *Ecol. Evol.* 2020; 10 (6): 2846–2859. DOI: 10.1002/ece3.6100.
- Arzumanyan H., Hakobyan S., Avagyan H., Izmailyan R., Nersisyan N., Karalyan Z. Possibility of long-term survival of African swine fever virus in natural conditions. *Vet. World*. 2021; 14 (4): 854–859. DOI: 10.14202/vet-world.2021.854-859.
- Bergmann H., Schulz K., Conraths F. J., Sauter-Louis C. A review of environmental risk factors for African swine fever in European wild boar. *Animals (Basel)*. 2021; 11 (9):2692. DOI: 10.3390/ani11092692.
- Guinat C., Vergne T., Jurado-Díaz C., Sánchez-Vizcaíno J. M., Dixon L., Pfeiffer D. U. Effectiveness and practicality of control strategies for African swine fever: what do we really know? *Vet. Rec.* 2017; 180 (4):97. DOI: 10.1136/vr.103992.
- Jori F., Bastos A. D. Role of wild suids in the epidemiology of African swine fever. *Ecohealth*. 2009; 6 (2): 296–310. DOI: 10.1007/s10393-009-0248-7.
- Jori F., Chenais E., Boinas F., Busauskas P., Dholander S., Fleischmann L., et al. Application of the World Café method to discuss the efficiency of African swine fever control strategies in European wild boar (*Sus scrofa*) populations. *Prev. Vet. Med.* 2020; 185:105178. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2020.105178.
- Probst C., Globig A., Knoll B., Conraths F. J., Depner K. Behaviour of free ranging wild boar towards their dead fellows: potential implications for the transmission of African swine fever. *R. Soc. Open Sci.* 2017; 4 (5):170054. DOI: 10.1098/rsos.170054.
- Masiulis M., Bušauskas P., Jonušaitis V., Pridotkas G. Potential role of domestic pig carcasses disposed in the forest for the transmission of African swine fever. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 2018; 131. DOI: 10.2376/0005-9366-18014.
- Guberti V., Khomenko S., Masiulis M., Kerba S. African swine fever in wild boar ecology and biosecurity. *FAO Animal Production and Health Manual No. 22*. Rome: FAO, OIE and EC; 2019. 96 p. DOI: 10.4060/CA5987EN.
- Mushagalusa C. A., Penrith M. L., Etter E. M. C. Spatiotemporal analysis of African swine fever outbreaks on South African smallholder farms, 1993–2018. *J. S. Afr. Vet. Assoc.* 2022; 93 (2): 82–88. DOI: 10.36303/JSAVA.161.
- Mogano K., Suzuki T., Mohale D., Phahladira B., Ngoepe E., Kamata Y., et al. Spatio-temporal epidemiology of animal and human rabies in northern South Africa between 1998 and 2017. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2022; 16 (7):e0010464. DOI: 10.1371/journal.pntd.0010464.
- Lu X., Ward M. P. Spatiotemporal analysis of reported classical swine fever outbreaks in China (2005–2018) and the influence of weather. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69 (5):e3183–e3195. DOI: 10.1111/tbed.14452.
- González Gordon L., Porphyre T., Muhanguzi D., Muwonge A., Boden L., Bronsvoort B. M. C. A scoping review of foot-and-mouth disease risk, based on spatial and spatio-temporal analysis of outbreaks in endemic settings. *Transbound. Emerg. Dis.* 2022; 69 (6): 3198–3215. DOI: 10.1111/tbed.14769.
- Gayawan E., Lima E. E. C. A spatio-temporal analysis of cause-specific mortality in São Paulo State, Brazil. *Cien. Saude Colet.* 2022; 27 (1): 287–298. DOI: 10.1590/1413-81232022271.32472020.
- Wang Z., Dong W., Yang K. Spatiotemporal analysis and risk assessment model research of diabetes among people over 45 years old in China. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2022; 19 (16):9861. DOI: 10.3390/ijerph19169861.
- Kulldorff M. Aspatial scan statistic. *Communications in Statistics – Theory and Methods*. 1997; 26 (6): 1481–1496. DOI: 10.1080/03610929708831995.
- Kulldorff M., Heffernan R., Hartman J., Assunção R., Mostashari F. A space-time permutation scan statistic for disease outbreak detection. *PLoS Med.* 2005; 2 (3):e59. DOI: 10.1371/journal.pmed.0020059.
- Kulldorff M. Prospective time periodic geographical disease surveillance using a scan statistic. *J. R. Stat. Soc. Ser. A*. 2001; 164 (1): 61–72. DOI: 10.1111/1467-985X.00186.
- Nobre F. F., Stroup D. F. A monitoring system to detect changes in public health surveillance data. *Int. J. Epidemiol.* 1994; 23 (2): 408–418. DOI: 10.1093/ije/23.2.408.

24. SaTScan™. Software for the spatial and space-time scan statistics. Режим доступа: <https://www.satscan.org>.
25. EFSA, Boklund A., Cay B., Depner K., Földi Z., Guberti V., et al. Epidemiological analyses of African swine fever in the European Union (November 2017 until November 2018). *EFSA J.* 2018; 16 (11):e05494. DOI: 10.2903/j.efsa.2018.5494.
26. Lange M., Guberti V., Thulke H.-H. Understanding ASF spread and emergency control concepts in wild boar populations using individual-based modelling and spatio-temporal surveillance data. *EFSA supp. publ.* 2018; 15 (11):EN-1521. 46 p. DOI: 10.2903/sp.efsa.2018.EN-1521.
27. Lange M., Reichold A., Thulke H.-H. Modelling advanced knowledge of African swine fever, resulting surveillance patterns at the population level and impact on reliable exit strategy definition. *EFSA supp. publ.* 2021; 18 (3):EN-6429. 61 p. DOI: 10.2903/sp.efsa.2021.EN-6429.
28. Lim J.-S., Vergne T., Pak S.-I., Kim E. Modelling the spatial distribution of ASF-positive wild boar carcasses in South Korea using 2019–2020 national surveillance data. *Animals (Basel)*. 2021; 11 (5):1208. DOI: 10.3390/ani11051208.
29. 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.
30. Mazur-Panasiuk N., Żmudzki J., Woźniakowski G. African swine fever virus – persistence in different environmental conditions and the possibility of its indirect transmission. *J. Vet. Res.* 2019; 63 (3): 303–310. DOI: 10.2478/jvetres-2019-0058.
31. Fischer M., Hühr J., Blome S., Conraths F. J., Probst C. Stability of African swine fever virus in carcasses of domestic pigs and wild boar experimentally infected with the ASFV “Estonia 2014” isolate. *Viruses*. 2020; 12 (10):1118. DOI: 10.3390/v12101118.
32. Kramer-Schadt S., Fernández N., Eisinger D., Grimm V., Thulke H.-H. Individual variations in infectiousness explain long-term disease persistence in wildlife populations. *Oikos*. 2009; 118 (2): 199–208. DOI: 10.1111/j.1600-0706.2008.16582.x.
33. O’Neil X., White A., Ruiz-Fons F., Gortázar C. Modelling the transmission and persistence of African swine fever in wild boar in contrasting European scenarios. *Sci. Rep.* 2020; 10 (1):5895. DOI: 10.1038/s41598-020-62736-y.
34. EFSA, Nielsen S. S., Alvarez J., Bicot D. J., Calistri P., Depner K., et al. ASF exit strategy: providing cumulative evidence of the absence of African swine fever virus circulation in wild boar populations using standard surveillance measures. *EFSA J.* 2021; 19 (3):e06419. DOI: 10.2903/j.efsa.2021.6419.
35. Podgórski T., Śmietanka K. Do wild boar movements drive the spread of African swine fever? *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (6): 1588–1596. DOI: 10.1111/tbed.12910.
36. Zani L., Masiulis M., Bušauskas P., Dietze K., Pridotkas G., Globig A., et al. African swine fever virus survival in buried wild boar carcasses. *Transbound. Emerg. Dis.* 2020; 67 (5): 2086–2092. DOI: 10.1111/tbed.13554.
37. Gervasi V., Guberti V. African swine fever endemic persistence in wild boar populations: key mechanisms explored through modelling. *Transbound. Emerg. Dis.* 2021; 68 (5): 2812–2825. DOI: 10.1111/tbed.14194.

Поступила в редакцию / Received 20.12.2022

Доработана после рецензирования / Revised 23.01.2023

Принята к публикации / Accepted 16.02.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Захарова Ольга Игоревна, научный сотрудник отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1408-2989>, e-mail: olenka.zakharova.1976@list.ru.

Блохин Андрей Александрович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5161-1184>, e-mail: and.bloxin2010@yandex.ru.

Бурова Ольга Александровна, заместитель руководителя отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5396-0334>, e-mail: burovaolga@list.ru.

Яшин Иван Вячеславович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела эпизоотологии и оценки риска, связанного со здоровьем животных, ННИВИ – филиал ФГБНУ ФИЦВиМ, г. Нижний Новгород, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7359-2041>, e-mail: ivanyashin@yandex.ru.

Коренной Федор Игоревич, кандидат географических наук, старший научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-7378-3531>, e-mail: korennoy@arriah.ru.

Olga I. Zakharova, Researcher, Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1408-2989>, e-mail: ozakharova@ficvim.ru.

Andrey A. Blokhin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Head of Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5161-1184>, e-mail: and.bloxin2010@yandex.ru.

Olga A. Burova, Deputy Head of Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5396-0334>, e-mail: burovaolga@list.ru.

Ivan V. Yashin, Candidate of Science (Biology), Leading Researcher, Department of Epizootology and Risk Assessment Associated with Animal Health, NNRVI – Branch of the FRCVM, Nizhny Novgorod, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7359-2041>, e-mail: ivanyashin@yandex.ru.

Fedor I. Korennoy, Candidate of Science (Geography), Senior Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI “ARRIAH”, Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-7378-3531>, e-mail: korennoy@arriah.ru.

Оценка эффективности кровяно-капельной реакции агглютинации при диагностике туберкулеза кур

М. О. Баратов

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

РЕЗЮМЕ

В связи с возросшей ролью оппортунистических инфекций, микобактериозов, паразитозов и др. резко увеличилась выявляемость неспецифических реакций на ППД-туберкулин, что затрудняет постановку диагноза и выводит на первый план лабораторные методы исследования. Целью настоящей работы явилось определение практической значимости кровяно-капельной реакции агглютинации в сравнении с аллергической пробой и частоты поражения внутренних органов при туберкулезе птиц. Для проведения сравнительной оценки данных методов было исследовано 4086 кур, из них 2000 гол. составлял молодняк 6–9-месячного возраста и 2086 гол. – взрослая птица. В целях сопоставления результатов аллергических и серологических исследований проводили патолого-анатомическое вскрытие кур из числа реагирующих на аллерген, выявленных с помощью кровяно-капельной реакции агглютинации и положительно реагирующих по обоим методам. Установлена низкая эффективность аллергической пробы в сравнении с серологической реакцией. Кровяно-капельная реакция агглютинации позволила дополнительно выявить в птицеводческих хозяйствах 311 серопозитивных на туберкулез взрослых кур. Показана эффективность данного серологического метода и на молодняке птиц с низким совпадением результатов в сравнении с аллергической пробой. Результаты патолого-анатомического вскрытия подтвердили практическую значимость серологической реакции, во всех случаях у положительно реагирующих в кровяно-капельной реакции агглютинации особей отмечена генерализация туберкулезного процесса. Зависимость пораженности внутренних органов от условий содержания птицы определяли в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах в осенний и весенний периоды. Выявили поражение внутренних органов у 835 гол. из 1072 исследованных особей. В осенний период в большинстве случаев был поражен кишечник (57,2%), в меньшинстве – легкие (8,2%), а в весенний период туберкулезные изменения чаще обнаруживали в легких (43,8%), реже – в кишечнике (35,5%). В зимний период содержания главная причина заболеваемости – пылевая инфекция, в летний же период птицы заражаются алиментарным путем, чем и объясняются полученные результаты. Выявление значительно большего количества больных кур, причем как в запущенной форме, так и на ранней стадии, дает возможность рекомендовать кровяно-капельную реакцию агглютинации для диагностики туберкулеза. Пораженность внутренних органов находится в прямой зависимости от системы содержания птицы и должна учитываться при проведении ветеринарно-санитарных мероприятий.

Ключевые слова: туберкулез, куры, кровяно-капельная реакция агглютинации, патолого-анатомическое исследование, птицеводство, диагностика, ППД-туберкулин, антиген, кровь

Для цитирования: Баратов М. О. Оценка эффективности кровяно-капельной реакции агглютинации при диагностике туберкулеза кур. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 66–72. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-66-72.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

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

Evaluation of the effectiveness of blood-drop agglutination test for chicken tuberculosis diagnosis

M. O. Baratov

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

SUMMARY

Due to the increased role of opportunistic infections, mycobacterioses, parasitoceneses, etc. the detectability of nonspecific reactions to PPD-tuberculin has sharply increased, which makes it difficult to make a diagnosis and brings laboratory test methods to the fore. The aim of the study was to determine practical significance of blood-drop agglutination test in comparison with allergy test, and frequency of avian tuberculosis lesions on internal organs. For comparative assessment of these techniques 4,086 chickens were tested, including 2,000 young chicks aged 6–9 months and 2,086 adult poultry. In order to compare the results of allergy and serological tests, necropsy was performed for reacting chickens, identified using blood-drop agglutination test and demonstrating positive results using both methods. Low effectiveness of the allergy test in comparison with the serological test was established. The blood-drop agglutination test made it possible to additionally identify 311 adult chickens seropositive for tuberculosis in poultry farms. The effectiveness of this serological method in young birds and poor matching of results in comparison with an allergy test have been shown. The necropsy findings confirmed the practical significance of the serological test; generalized tuberculosis process was noted in all birds positively reacting in blood-drop agglutination test. The dependence of internal organ lesions on poultry-keeping conditions was determined in tuberculosis-affected farms in the autumn and spring periods. Internal organ lesions were found in 835 birds out of 1,072 tested poultry. In the autumn period

the intestines were affected in most cases (57.2%), lung lesions were found in the least cases (8.2%), and in the spring period tuberculosis lesions were more often detected in the lungs (43.8%), less often in the intestines (35.5%). In the winter period, the morbidity predominantly occurs due to dust infection, and in summer, birds become infected via alimentary route, which explains the results obtained. The identification of a significantly larger number of diseased chickens, both in advanced form and at an early stage, makes it possible to recommend a blood-drop agglutination test for the diagnosis of tuberculosis. The involvement of internal organs directly depends on the poultry keeping system and should be taken into account when veterinary and sanitary measures are performed.

Keywords: tuberculosis, chickens, blood-drop agglutination test, necropsy, poultry farming, diagnosis, PPD-tuberculin, antigen, blood

For citation: Baratov M. O. Evaluation of the effectiveness of blood-drop agglutination test for chicken tuberculosis diagnosis. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 66–72. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-66-72.

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

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

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на то что большинство обязательств и намеченных целей по программам борьбы с туберкулезом животных были достигнуты, проблема заболеваемости туберкулезом животных и человека и по сегодняшний день продолжает оставаться одной из наиболее сложных и значимых [1–3].

После смены общественно-экономической формации, нарушения налаженных звеньев в системе ведения животноводства и резкого спада потенциала отрасли возникла необходимость разработки эффективных методов борьбы с болезнями инфекционной природы, в частности с туберкулезом птиц [4–6].

По мнению ряда авторов, с переводом птицеводства на промышленную основу и сокращением сроков содержания в оптимальных ветеринарно-санитарных условиях с полноценным кормлением проблема туберкулеза птиц стала менее заметной [7, 8].

В то же время наметившееся увеличение численности птицы в хозяйствах частных форм собственности, где свойственно бесконтрольное и бессистемное перемещение как птицы, так и продукции, создает определенные трудности при проведении ветеринарно-санитарных и организационно-хозяйственных мероприятий, в том числе и противотуберкулезных. В этих условиях птица может стать источником постоянной циркуляции микобактерий в природе [9].

По данным литературы, в некоторых хозяйствах причиной заражения крупного рогатого скота стали больные туберкулезом куры. В ряде случаев переносчиками *Mycobacterium avium* становились доярки, держащие кур в личных хозяйствах [10–17].

В связи с этим своевременное выявление больных туберкулезом кур имеет большое практическое значение в оздоровлении неблагополучных по данному заболеванию хозяйств. Применяемые в настоящее время в практике методы диагностики не позволяют обнаружить всех больных туберкулезом птиц [18–20]. Доказательством этого является то, что после проведения поголовной двукратной туберкулинизации и изолирования реагирующих на ППД-туберкулин птиц в последующем в благополучных стадах по результатам патолого-анатомического вскрытия выявляются куры с явно выраженной формой туберкулеза [20–24].

Вопрос совершенствования и изыскания новых, более эффективных методов диагностики туберкулеза у кур исследователей интересовал давно. Так, с этой целью ученые стали апробировать серологические методы, основанные на иммунологических реакциях, например реакцию агглютинации. Для этого был приготовлен туберкулезный антиген из культуры микобактерии птичьего типа [25–32].

Ряд исследователей реакцию гемагглютинации проводили с сывороткой крови больных туберкулезом [33–36].

В целях поиска подходов к созданию более совершенных методов диагностики туберкулеза у птиц и с учетом выявляемости кур с 50%-й пораженностью из числа не реагирующих на туберкулин во Всесоюзном институте экспериментальной ветеринарии (ныне ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко РАН») был изготовлен антиген (штамм № 9 с выраженными антигенными свойствами) для проведения исследования в кровяно-капельной реакции агглютинации (ККРА). В 1955 г. А. В. Прохоров и соавт. испытали приготовленный из культур микобактерии птичьего типа антиген в ККРА и сравнили результаты с туберкулиновой пробой. При этом установили, что серологическим методом выявляется больше больных кур, чем с помощью аллергической пробы. Так, при обследовании 23 355 гол. птиц с помощью аллергена было выявлено 756 (3,2%) больных туберкулезом особей. Из 22 599 гол., не реагирующих на туберкулин, у 2079 (8,4%) с помощью ККРА диагностировали туберкулез [23].

Аналогичные результаты получены и другими исследователями, которые считают ККРА эффективным методом диагностики туберкулеза птиц, позволяющим выявлять больных кур как в начальной стадии заболевания, так и на стадии генерализации процесса [37, 38].

В дальнейшем для выявления смешанной инфекции (пуллороз и туберкулез) в Литовском научно-исследовательском ветеринарном институте был изготовлен комплексный антиген, представляющий собой смесь пуллорного антигена ГНКИ и туберкулезного антигена Литовского НИВИ [39].

С целью выделения максимального количества инфицированных птиц многие исследователи рекомендуют проводить комплексное исследование двумя методами: ККРА и туберкулинизацией [38].

К сожалению, в литературных источниках не удалось найти результатов новейших исследований по изучению научной значимости и практической эффективности кровяно-капельной реакции агглютинации при диагностике туберкулеза у кур. В силу того, что многие аспекты результативности данной реакции остаются неизученными, продолжает иметь место множественность понятий об оправданности и востребованности данной реакции.

Важно отметить, что в связи с возросшей ролью оппортунистических инфекций, микобактериозов, паразитоценозов и др. резко увеличилась выявляемость неспецифических реакций на ППД-туберкулин, что, безусловно, затрудняет постановку диагноза и выводит на первый план лабораторные методы исследования. В этой связи для выявления пораженных туберкулезом кур обоснована необходимость использования серологических методов исследования, роль которых, на наш взгляд, часто недооценивается.

Целью работы было сравнение эффективности серологического метода исследования (ККРА) с аллергической пробой, а также оценка пораженности внутренних органов у кур в зависимости от системы содержания.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования с применением ККРА при диагностике туберкулеза птиц проводили в хозяйствах Республики Дагестан в период с 2015 по 2021 г.

Кровяно-капельную реакцию агглютинации с использованием цельной крови и антигена применяли параллельно с внутрикожной аллергической диагностикой.

На чистое предметное стекло пипеткой наносили 1–2 капли антигена (готовили в лаборатории из суточной культуры – смыва с мясо-пептонного агара). Кровь брали из подкрыльцовой вены, переносили на стекла и смешивали с антигеном. Положительной считали реакцию с просветлением смеси и появлением явно выраженных хлопьев, образующихся благодаря склеиванию микробов с антителами, специфической – если агглютинация наступала в течение одной минуты.

Для проведения сравнительной оценки ККРА и аллергической пробы было исследовано 4086 кур, из них 2000 гол. составлял молодняк 6–9-месячного возраста и 2086 гол. – взрослая птица.

В целях сопоставления результатов аллергических, серологических, а также патолого-анатомических исследований диагностическому убою подвергнуто 300 кур: 100 гол. – реагирующих на аллерген, 100 гол. – выявленных в ККРА и 100 гол. – имеющих положительные реакции при обоих методах диагностики.

Для выяснения зависимости пораженности внутренних органов от системы содержания птицы было убито 1072 гол.: 579 – в осенний, 493 – в весенний периоды.

Аллергические исследования проводили в соответствии с «Наставлением по применению (ППД) туберкулинов для млекопитающих и для птиц»¹ с использованием ППД-туберкулина для птиц, который вводили

внутрикожно в бороздку в дозе 0,1 мл. Реакцию (образование припухлости в месте введения) учитывали через 30–36 ч.

При проведении симультанной пробы курам в бороздки с противоположных сторон одновременно внутрикожно в дозе 0,1 мл вводили два аллергена: сухой очищенный туберкулин и сухой очищенный комплексный аллерген из атипичных микобактерий (КАМ), а затем определяли различия в интенсивности реакций на эти аллергены².

Все манипуляции с животными выполняли в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнение эффективности ККРА с аллергической пробой проводили в условно благополучных по туберкулезу хозяйствах на 2086 гол. взрослой птицы.

В ООО «Буйнакская птицефабрика» общее количество взрослых особей составляло 3678 гол., по результатам плановых аллергических исследований за последние 5 лет реагирующих на ППД-туберкулин птиц здесь не обнаружено. В СПК «Буглен» насчитывалось 1200 гол., при проведении плановых исследований выявляли реагирующих на туберкулин особей, но в последующем диагноз не подтверждался. В КФХ «Казбек» у имеющихся 768 гол. взрослой птицы диагноз также не подтвержден. Отсутствие положительно реагирующих особей в стаде из 630 гол. отмечено и в ИП «Ругуж». Результаты исследования взрослой птицы отражены в таблице 1.

Установлено, что с помощью ККРА дополнительно выявлено: в ООО «Буйнакская птицефабрика» – 3, СПК «Буглен» – 78, КФХ «Казбек» – 227 и ИП «Ругуж» – 3 гол. больных кур. Совпадение результатов аллергической пробы с ККРА было отмечено в 73,9–75,4% случаев.

Исследование молодняка 6–9-месячного возраста проводили в двух хозяйствах: на птицеферме ООО «Карабудахкентская» и в КФХ «Тарки», где за последние 5 лет птица не подвергалась аллергическим исследованиям. Удалось выявить как серопозитивных, так и положительно реагирующих на туберкулин особей.

Как видно из результатов, представленных в таблице 2, с помощью ККРА туберкулез можно выявлять у птиц в раннем возрасте. Так, на птицеферме ООО «Карабудахкентская» серологическим методом было обнаружено 18 гол. (1,3%), а в КФХ «Тарки» – 12 гол. (2,0%) больных птиц. Совпадение результатов ККРА с аллергической диагностикой у молодняка колеблется от 12,5 до 27,8%.

Следует отметить, что чувствительность ККРА на птицеферме ООО «Карабудахкентская» была выше. Сопоставляя результаты аллергических исследований с серологическими, можно сделать вывод, что высокий уровень серопозитивности свидетельствует об угрозе реактивации латентной формы туберкулеза. Высокая информативность выявления специфических антител в ККРА дает основание использовать данную реакцию для мониторинговых исследований в системе комплексной профилактики инфекции.

¹ Наставление по применению (ППД) туберкулинов для млекопитающих и для птиц. Режим доступа: <http://www.agrozo.ru/text/vet-prep.html/238.html>.

² Наставление по проведению симультанной аллергической пробы с применением туберкулина и комплексного аллергена из атипичных микобактерий (КАМ) при диагностике туберкулеза у животных: утв. Минсельхозом СССР 27.11.1978. Режим доступа: <https://base.garant.ru/70526680>.

Таблица 1

Сравнительное изучение ККРА и аллергической пробы на взрослой птице

Table 1

Comparative study of agglutination and allergy test in adult poultry

Название хозяйства	Количество исследованной птицы, гол.	Выявлено больных кур				Совпадение результатов ККРА и аллергической пробы	%
		аллергеном, гол.	%	ККРА, гол.	%		
ООО «Буйнакская птицефабрика»	1221	–	–	3	0,25	–	–
СПК «Буглен»	400	161	40,25	239	59,75	119	73,9
КФХ «Казбек»	365	69	18,9	296	81,1	52	75,4
ИП «Ругуж»	100	–	–	3	3	–	–

Таблица 2

Сравнительное изучение ККРА и аллергической пробы на молодняке птиц

Table 2

Comparative study of agglutination and allergy test in young poultry

Название хозяйства	Количество исследованной птицы, гол.	Выявлено больных кур				Совпадение результатов ККРА и аллергической пробы	%
		аллергеном, гол.	%	ККРА, гол.	%		
ООО «Карабудахкентская»	1400	5	0,36	18	1,3	5	27,8
КФХ «Тарки»	600	16	2,7	12	2,0	2	12,5

Результаты патолого-анатомического обследования птиц, реагировавших на введение аллергена и выявленных с помощью ККРА, отражены в таблице 3.

При вскрытии кур с положительной реакцией в ККРА генерализацию туберкулезного процесса отмечали у 13% исследованных особей; поражения селезенки и кишечника наблюдали у 26%, печени и кишечника – у 14%, печени, кишечника и селезенки – у 3% птиц. Были зафиксированы туберкулезные узлы в отдельных органах: печени (9%), кишечнике (7%) и селезенке (3%).

При патолого-анатомическом исследовании кур, выявленных только по результатам проведения внутрикожной аллергической пробы, генерализованную форму туберкулеза обнаруживали в 9%, поражения селезенки и кишечника – в 24%, печени и кишечника – в 16%, печени, селезенки и кишечника – в 1% случаев. Зарегистрирована пораженность отдельных органов: печени (3%), кишечника (4%) и селезенки (2%).

Вскрытие кур, имеющих положительные реакции при диагностических исследованиях, выполненных обоими методами, показало наличие генерализации процесса у 12%, поражения селезенки и кишечника – у 18%, печени и кишечника – у 15%, печени, селезенки и кишечника – у 2%, печени, кишечника и яйцевода – у 4%, печени, кишечника и лимфоидных тканей – у 1% обследованных птиц. Туберкулезные узлы наблюдали в отдельных органах: печени (6%), кишечнике (2%) и селезенке (1%).

В целом туберкулез у кур сопровождается типичными для данного заболевания патолого-анатомическими изменениями внутренних органов. Отмечается наличие бугорков желтовато-серого или серовато-белого цвета различной формы и величины. В начальной стадии поражаются отдельные или несколько органов с образованием узлов величиной от макового зерна до булавочной головки, хорошо заметных и отделяющихся от здоровой ткани.

В запущенных случаях несколько или все внутренние органы засыпаны туберкулезными бугорками. Иногда образуются плотные узлы, величина которых достигает размеров лесного ореха. Нередко большие узлы располагаются близко друг к другу, могут сливаться, образуя конгломераты размером до 4 см.

Часто отмечаются поражения нескольких органов, прежде всего печени, селезенки, а затем и других, с одинаковыми по величине однородными узелками.

В целом при туберкулезе кур встречается пестрая картина поражения внутренних органов.

Таблица 3

Сравнение показаний пораженности внутренних органов кур при туберкулезе

Table 3

Comparison of parameters of internal organ lesions in chickens with tuberculosis

Локализация поражений	Положительные результаты, полученные методом		
	ККРА	аллергическая проба	аллергическая проба + ККРА
Генерализованная форма	13	9	12
Селезенка и кишечник	26	24	18
Печень и кишечник	14	16	15
Печень	9	3	6
Кишечник	7	4	2
Печень, кишечник и селезенка	3	1	2
Селезенка	3	2	1
Печень, кишечник и яйцевод	–	–	4
Печень, кишечник и лимфоидные ткани	–	–	1
Макроскопически видимые поражения отсутствовали	25	41	39

Таблица 4
Результаты патолого-анатомического вскрытия

Table 4
Necropsy findings

Пораженные внутренние органы	Случаи поражения соответственно периоду исследования			
	осень		весна	
	количество	%	количество	%
Печень	83	16	33	10,2
Селезенка	27	5,2	18	5,6
Кишечник	26	5	2	0,6
Печень и кишечник	122	23,4	22	6,8
Генерализованная форма	74	14,6	22	6,8
Печень, селезенка и кишечник	93	18,5	61	18,9
Кишечник и селезенка	27	6,4	–	–
Печень, селезенка и легкие	27	5,2	32	9,9
Кишечник, брыжейка и легкие	10	1,9	–	–
Кишечник и легкие	8	1,5	–	–
Яйцевод	6	1,1	–	–
Селезенка и легкие	3	0,5	2	0,6
Печень, селезенка и кишечник	3	0,5	2	0,6
Мышцы	2	0,4	–	–
Печень и легкие	1	0,38	28	14,9
Легкие	2	0,4	14	4,3
Печень, кишечник и легкие	–	–	8	2,4
Печень, легкие и яйцевод	–	–	12	3,7
Печень и желудок	–	–	2	0,6
Печень, селезенка и яйцевод	–	–	10	3
Легкие и почки	–	–	2	0,6
Легкие, печень и почки	–	–	12	3,7

В связи с вышеизложенным представлялось целесообразным изучение зависимости пораженности внутренних органов от системы содержания птицы. Для этого в неблагополучных по туберкулезу хозяйствах птица исследовалась после зимнего и летнего содержания – весной и осенью. Результаты отражены в таблице 4.

Установлено, что поражения внутренних органов отмечаются у 796 гол. из 1072 убитых с диагностической целью в разное время. По частоте поражения на первом месте выделяются печень, кишечник и селезенка, а также регистрируется много случаев генерализации туберкулезного процесса. Наряду с этим туберкулезные изменения наблюдаются в легких, яйцевом, почках, желудке, клоаке.

Как показали результаты патолого-анатомического вскрытия, проведенные в осенний период, туберкулезные узлы большей частью обнаруживаются в кишечнике (56,2%), меньшей – в легких (8,9%), а в весенний период: в большинстве случаев – в легких (39,0%) и в меньшинстве – в кишечнике (33,6%). Причиной это-

го, по всей вероятности, являются условия содержания птицы. В зимний период, по-видимому, главную роль в инфицировании играет пылевая инфекция, тогда как в летний птицы заражаются алиментарным путем.

ВЫВОДЫ

1. Для диагностики туберкулеза птиц необходимо проводить комплексное исследование с одновременной постановкой кровяно-капельной реакции агглютинации и двукратной внутрикожной аллергической пробы.

2. Кровяно-капельная реакция агглютинации позволяет выявлять значительно большее количество больных туберкулезом кур как на стадии генерализации, так и на ранней стадии заболевания.

3. У больной туберкулезом птицы чаще всего поражаются печень, селезенка, кишечник, в меньшей степени – другие органы.

4. Пораженность кишечника и легких находится в прямой зависимости от условий содержания птицы. В зимний период преобладают поражения в легких, в летний – в кишечнике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баратов М. О., Гусейнова П. С. Актуализированная эпизоотическая ситуация по туберкулезу крупного рогатого скота в Республике Дагестан. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (3): 222–228. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-222-228.
2. Кассич Ю. Я., Борзяк А. Т., Кочмарский А. Ф. и др. Туберкулез животных и меры борьбы с ним. Под ред. Ю. Я. Кассича. Киев: Урожай; 1990. 303 с.
3. Садовников Н. В., Петрова О. Г. Туберкулез у мелких животных и у птиц. *БЮО*. 2019; 4 (223): 20–23.
4. Бессарабов Б. Ф. Болезни сельскохозяйственной птицы. М.: Колос; 2004. 347 с.
5. Гавриш В. Г. Справочник ветеринарного врача. Ростов н/Д: Феникс, 2004. 576 с.
6. Бессарабов Б. Ф., Мельникова И. И., Сушкова Н. К., Садчиков С. Ю. Болезни птиц. СПб.: Лань; 2007. 445 с.
7. Спиридонов А. Н., Петрова О. Н., Ирза В. Н., Караулов А. К., Никифоров В. В. Об эпизоотической ситуации по интравитальной болезни птиц на основе анализа данных ветеринарной отчетности. *Ветеринария сегодня*. 2015; (4): 18–28. Режим доступа: <https://veterinary.aria.ru/jour/article/view/215>.
8. Баратов М. О. Туберкулез животных: монография. Махачкала: ФГБНУ «ФАНЦ РД»; 2018. 198 с. eLIBRARY ID: 37122407.
9. Dvorska L., Matlova L., Ayele W. Y., Fischer O. A., Amemori T., Weston R. T., et al. Avian tuberculosis in naturally infected captive water birds of the *Ardeidae* and *Threskiornithidae* families studied by serotyping, IS901 RFLP typing, and virulence for poultry. *Vet. Microbiol.* 2007; 119 (2–4): 366–374. DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.09.010.
10. Ярбаев Н., Мирзоев Д. М., Хасанов Н. Р. Система противотуберкулезных мероприятий в скотоводстве и ее противоэпизоотическая эффективность. *Проблемы развития сельскохозяйственной науки Республики Таджикистан: материалы конференции, посвященной 85-летию академика Г. А. Алиева*. Душанбе; 2001; 105–107.
11. Sangari F. J., Parker A., Bermudez L. E. *Mycobacterium avium* interaction with macrophages and intestinal epithelial cells. *Front. Biosci.* 1999; 4 (4): 582–588. DOI: 10.2741/sangari.
12. Plattner B. L., Huffman E., Jones D. E., Hostetter J. M. T lymphocyte responses during early enteric *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2014; 157 (1–2): 12–19. DOI: 10.1016/j.vetimm.2013.11.001.
13. Douarre P. E., Cashman W., Buckley J., Coffey A., O'Mahony J. M. Isolation and detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP) from cattle in Ireland using both traditional culture and molecular based methods. *Gut. Pathog.* 2010; 2 (1):11. DOI: 10.1186/1757-4749-2-11.
14. Журнакова М. А., Малыгин В. И., Борисенкова А. Н., Болотников И. И. Парааллергические реакции на туберкулин у крупного рогатого скота, зараженного птичьим типом микобактерий. *Ветеринария*. 1964; 3: 23–25.
15. Тузова Р. В. Экспериментальное изучение патогенности возбудителя туберкулеза птичьего типа для крупного рогатого скота. *Борьба с потерями в животноводстве*. Минск; 1963; 20–30.

16. Тузова Р. В. Туберкулез сельскохозяйственных животных и птицы. Минск: Ураджай; 1983. 263 с.
17. Кокуричев П. И., Ротов В. И. Туберкулез домашних птиц. Москва; Ленинград: Сельхозгиз; 1959. 133 с.
18. Бакулов И. А., Юрков Г. Г., Песковацков П. П., Ведерников В. В. Методические указания по эпизоотологическому исследованию. М.: Колос; 1982. 16 с.
19. Найманов А. Х. Дифференциация аллергических реакций на туберкулин. *Ветеринария*. 2002; 3: 10–13. eLIBRARY ID: 26691713.
20. Жумаш А. С., Базарбаев М. Б., Саргаскаев Д. Т. Частота проявления неспецифических туберкулиновых реакций у животных в благополучных по туберкулезу хозяйствах. *Вестник Кыргызского НИИ животноводства, ветеринарии и пастбищ им. А. Дуйшеева*. Бишкек; 2007; 1: 282–285.
21. Schmidt V., Köhler H., Heenemann K., Möbius P. Mycobacteriosis in various pet and wild birds from Germany: Pathological findings, coinfections, and characterization of causative mycobacteria. *Microbiol. Spectr.* 2022; 10 (4):e0045222. DOI: 10.1128/spectrum.00452-22.
22. Shivaprasad H. L., Palmieri C. Pathology of mycobacteriosis in birds. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* 2012; 15 (1): 41–55. DOI: 10.1016/j.cvex.2011.11.004.
23. Прохоров А. В., Фомина А. Я., Акулов А. В. Опыт применения ККРА для диагностики туберкулеза кур. *Ветеринария*. 1955; 11: 42–45.
24. Tell L. A., Woods L., Cromie R. L. Mycobacteriosis in birds. *Rev. Sci. Tech.* 2001; 20 (1): 180–203. DOI: 10.20506/rst.20.1.1273.
25. Pavlas M., Michalská A., Huňady M. Diagnosis of avian tuberculosis-mycobacteriosis by rapid agglutination. *Acta Vet. Brno*. 1993; 62 (1): 63–69. DOI: 10.2754/avb199362010063.
26. Moses H. E., Feldman W. H., Mann E. C. Mycobacterial rapid agglutination antigens and their diagnostic value in tuberculosis of fowl. *Amer. J. Veterin. Res.* 1943; 4 (12): 390–394.
27. Visy L., Dozsa I., Paszlör L. Serological slide agglutination tests using an antigen prepared from decapsulated tuberculosis bacteria on zoo birds. *Proceedings of the V International Symposium on Diseases in Zoo Animals*. 1963; 214–219.
28. Акылбекова К. Т., Касымов Т. К., Касымбеков Ж. Б., Ким В. И., Нургазиев Р. З. Серологический метод диагностики туберкулеза животных. *Вестник «Пространство ученых в мире»*. 2018; 4: 8–10.
29. Cromie R. L., Brown M. J., Forbes N. A., Morgan J., Stanford J. L. A comparison and evaluation of techniques for diagnosis of avian tuberculosis in wildfowl. *Avian Pathol.* 1993; 22 (3): 617–630. DOI: 10.1080/03079459308418948.
30. Hiller K., Schliesser T., Fink G., Dorn P. Zur serologischen Diagnose der Hühnertuberkulose = The serological diagnosis of tuberculosis in chickens. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 1967; 80 (11): 212–216. PMID: 5627883.
31. Hawkey C., Kock R. A., Henderson G. M., Cindery R. N. Haematological changes in domestic fowl (*Gallus gallus*) and cranes (*Gruiiformes*) with *Mycobacterium avium* infection. *Avian Pathol.* 1990; 19 (2): 223–234. DOI: 10.1080/03079459008418675.
32. Kwatra M. S., Sharma G. L., Singh G. Passive hemagglutination test in diagnosis of experimental tuberculosis in ducks, compared with other fowl. *Avian Diseases*. 1972; 16 (5): 1035–1041. DOI: 10.2307/1588826.
33. Greuel H., Pothmann F. J., Quitte C., Wilms D. Beitrag zur Hämagglutinationsreaktion auf Tuberkulose. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose*. 1954; 110: 483–491. DOI: 10.1007/BF02148553.
34. Vior C. Untersuchung zur Herstellung eines Antigens für Frischblut bei Geflügeltuberkulose. *Lucr. sti. Inst. Pat. Igiena Anim. București*. 1962; 12: 57–66.
35. Ivanov M. M. Some problems of tuberculosis control in cattle and specificity of the tuberculin reaction. *Bull. Off. Int. Epizoot.* 1965; 63 (9): 1403–1418. PMID: 5893671.
36. Ivanoff K. Über Geflügeltuberkulose und ihre Verbreitung in Bulgarien. *Zeitschrift für Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere*. 1933; 44: 243–249.
37. Семенчук К. Л., Трибо Л. П. О серологической диагностике туберкулеза птиц. *Труды ВИЭВ*. 1966; 32: 162–165.
38. Кузнецов В. А. Сравнительная оценка кровекapельной реакции агглютинации и аллергической пробы при диагностике туберкулеза кур. *Тезисы докладов итоговой научной конференции за 1968 год*. Витебск: Витебский ветеринарный институт; 1969; 33–35. Режим доступа: <https://repo.vsavm.by/bitstream/123456789/15421/1/k-1969-1-1-33-35.pdf>.
39. Бальчиюнас И. И. Сравнительная оценка диагностики туберкулеза и пуллороза кур: автореф. дис. ... д-ра. вет. наук. Харьков; 1974. 43 с.
40. Kassich Yu. Ya., Borzyak A. T., Kochmarsky A. F., et al. Animal Tuberculosis and Measures to Control It. Ed. by Yu. Ya. Kassich. Kiev: Urozhay; 1990. 303 p. (in Russ.)
41. Sadovnikov N. V., Petrova O. G. Tuberkulez u melkikh zhivotnykh i u ptits = Tuberculosis in small animals and birds. *B/O*. 2019; 4 (223): 20–23. (in Russ.)
42. Bessarabov B. F. Poultry diseases. Moscow: Kolos; 2004. 347 p. (in Russ.)
43. Gavrilsh V. G. Handbook for veterinary physicians. Rostov-on-Don: Feniks, 2004. 576 p. (in Russ.)
44. Bessarabov B. F., Mel'nikova I. I., Sushkova N. K., Sadchikov S. Yu. Avian diseases. Saint Petersburg: Lan'; 2007. 445 p. (in Russ.)
45. Spiridonov A. N., Petrova O. N., Irza V. N., Karaulov A. K., Nikiforov V. V. Epizootic situation on infectious avian diseases based on analysis of data from veterinary reports. *Veterinary Science Today*. 2015; (4): 18–28. Available at: <https://veterinary.arriah.ru/jour/article/view/215>.
46. Baratov M. O. Animal tuberculosis: monograph. Makhachkala: Dagestan Agriculture Science Center; 2018. 198 p. eLIBRARY ID: 37122407. (in Russ.)
47. Dvorska L., Matlova L., Ayele W. Y., Fischer O. A., Amemori T., Weston R. T., et al. Avian tuberculosis in naturally infected captive water birds of the *Ardeidae* and *Threskiornithidae* families studied by serotyping, IS901 RFLP typing, and virulence for poultry. *Vet. Microbiol.* 2007; 119 (2–4): 366–374. DOI: 10.1016/j.vetmic.2006.09.010.
48. Yarbav N., Mirzoev D. M., Khasanov N. R. Sistema protivotuberkuleznykh meropriyatii v skotovodstve i ee protivoepizooticheskaya effektivnost' = The system of anti-tuberculosis measures in cattle breeding and its anti-epizootic effectiveness. *Problemy razvitiya sel'skokhozyaystvennoi nauki Respubliki Tadzhikistan: materialy konferentsii, posvyashchennoi 85-letiyu akademika G. A. Alieva = Problematic Issues of Agricultural Science Development in the Republic of Tajikistan: Proceedings of the Conference Dedicated to the 85th Anniversary of Academician G. A. Aliyev*. Dushanbe; 2001; 105–107. (in Russ.)
49. Sangari F. J., Parker A., Bermudez L. E. *Mycobacterium avium* interaction with macrophages and intestinal epithelial cells. *Front. Biosci.* 1999; 4 (4): 582–588. DOI: 10.2741/sangari.
50. Plattner B. L., Huffman E., Jones D. E., Hostetter J. M. T lymphocyte responses during early enteric *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2014; 157 (1–2): 12–19. DOI: 10.1016/j.vetimm.2013.11.001.
51. Douarre P. E., Cashman W., Buckley J., Coffey A., O'Mahony J. M. Isolation and detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) from cattle in Ireland using both traditional culture and molecular based methods. *Gut. Pathog.* 2010; 2 (1): 11. DOI: 10.1186/1757-4749-2-11.
52. Zhurnakova M. A., Malygin V. I., Borisenkova A. N., Bolotnikov I. I. Paraallergicheskie reaktsii na tuberkulin u krupnogo rogatogo skota, zara-zhennogo ptich'im tipom mikobakterii = Para-allergic reactions to tuberculin in cattle infected with avian mycobacterium. *Veterinariya*. 1964; 3: 23–25. (in Russ.)
53. Tuzova R. V. Eksperimental'noe izuchenie patogennosti vzbudite-lya tuberkuleza ptich'ego tipa dlya krupnogo rogatogo skota = Experimental study of the pathogenicity of avian tuberculosis agent for cattle. *Bor'ba s poteryami v zhivotnovodstve*. Minsk; 1963; 20–30. (in Russ.)
54. Tuzova R. V. Tuberculosis in livestock and poultry. Minsk: Uradzhai; 1983. 263 p. (in Russ.)
55. Kokurichev P. I., Rotov V. I. Poultry tuberculosis. Moscow; Leningrad: Sel'khozgiz; 1959. 133 p. (in Russ.)
56. Bakulov I. A., Yurkov G. G., Peskovatskov P. P., Vedernikov V. V. Methodical guidelines for epizootological investigation. Moscow: Kolos; 1982. 16 p. (in Russ.)
57. Naimanov A. Kh. Differentsiatsiya allergicheskikh reaktsii na tuberculin = Differentiation of allergic reactions to tuberculin. *Veterinariya*. 2002; 3: 10–13. eLIBRARY ID: 26691713. (in Russ.)
58. Zhumash A. S., Bazarbaev M. B., Sargaskaev D. T. Chastota proyavleniya nespecificeskikh tuberkulinovykh reaktsii u zhivotnykh v blagopoluchnykh po tuberkulezu khozyaystvakh = The frequency of manifestation of non-specific tuberculin reactions in animals in tuberculosis-free farms. *Vestnik Kirgizskogo NII zhivotnovodstva, veterinarii i pastbishch im. A. Duisheeva*. Bishkek; 2007; 1: 282–285. (in Russ.)
59. Schmidt V., Köhler H., Heenemann K., Möbius P. Mycobacteriosis in various pet and wild birds from Germany: Pathological findings, coinfections, and characterization of causative mycobacteria. *Microbiol. Spectr.* 2022; 10 (4):e0045222. DOI: 10.1128/spectrum.00452-22.
60. Shivaprasad H. L., Palmieri C. Pathology of mycobacteriosis in birds. *Vet. Clin. North Am. Exot. Anim. Pract.* 2012; 15 (1): 41–55. DOI: 10.1016/j.cvex.2011.11.004.
61. Prokhorov A. B., Fomina A. Ya., Akulov A. V. Opyt primeneniya Kkra dlya diagnostiki tuberkuleza kur = Experience of BDAT for avian tuberculosis diagnosis. *Veterinariya*. 1955; 11: 42–45. (in Russ.)

REFERENCES

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

24. Tell L. A., Woods L., Cromie R. L. Mycobacteriosis in birds. *Rev. Sci. Tech.* 2001; 20 (1): 180–203. DOI: 10.20506/rst.20.1.1273.
25. Pavlas M., Michalská A., Huňady M. Diagnosis of avian tuberculosis-mycobacteriosis by rapid agglutination. *Acta Vet. Brno.* 1993; 62 (1): 63–69. DOI: 10.2754/avb199362010063.
26. Moses H. E., Feldman W. H., Mann E. C. Mycobacterial rapid agglutination antigens and their diagnostic value in tuberculosis of fowl. *Amer. J. Veterin. Res.* 1943; 4 (12): 390–394.
27. Visy L., Dozsa I., Paszlor L. Serological slide agglutination tests using an antigen prepared from decapsulated tuberculosis bacteria on zoo birds. *Proceedings of the V International Symposium on Diseases in Zoo Animals.* 1963; 214–219.
28. Akylbekova K. T., Kasymov T. K., Kasymbekov Zh. B., Kim V. I., Nurgaziev R. Z. Serological diagnosis of animal tuberculosis. *Vestnik «Prostranstvo uchenykh v mire».* 2018; 4: 8–10. (in Russ.)
29. Cromie R. L., Brown M. J., Forbes N. A., Morgan J., Stanford J. L. A comparison and evaluation of techniques for diagnosis of avian tuberculosis in wildfowl. *Avian Pathol.* 1993; 22 (3): 617–630. DOI: 10.1080/03079459308418948.
30. Hiller K., Schliesser T., Fink G., Dorn P. Zur serologischen Diagnose der Hühnertuberkulose = The serological diagnosis of tuberculosis in chickens. *Berl. Münch. Tierärztl. Wochenschr.* 1967; 80 (11): 212–216. PMID: 5627883. (in German)
31. Hawkey C., Kock R. A., Henderson G. M., Cindery R. N. Haematological changes in domestic fowl (*Gallus gallus*) and cranes (*Gruiformes*) with *Mycobacterium avium* infection. *Avian Pathol.* 1990; 19 (2): 223–234. DOI: 10.1080/03079459008418675.
32. Kwatra M. S., Sharma G. L., Singh G. Passive hemagglutination test in diagnosis of experimental tuberculosis in ducks, compared with other fowl. *Avian Diseases.* 1972; 16 (5): 1035–1041. DOI: 10.2307/1588826.
33. Greuel H., Pothmann F. J., Quitte C., Wilms D. Beitrag zur Hämagglutinationsreaktion auf Tuberkulose. *Beiträge zur Klinik der Tuberkulose.* 1954; 110: 483–491. DOI: 10.1007/BF02148553. (in German)
34. Vior C. Untersuchung zur Herstellung eines Antigens für Frischblut bei Geflügeltuberkulose. *Lucr. sti. Inst. Pat. Igiena Anim. București.* 1962; 12: 57–66. (in German)
35. Ivanov M. M. Some problems of tuberculosis control in cattle and specificity of the tuberculin reaction. *Bull. Off. Int. Epizoot.* 1965; 63 (9): 1403–1418. PMID: 5893671.
36. Ivanoff K. Über Geflügeltuberkulose und ihre Verbreitung in Bulgarien. *Zeitschrift für Infektionskrankheiten, parasitäre Krankheiten und Hygiene der Haustiere.* 1933; 44: 243–249. (in German)
37. Semenchuk K. L., Tribo L. P. O serologicheskoi diagnostike tuberkuleza ptits = Serological diagnosis of avian tuberculosis. *Trudy VIEV.* 1966; 32: 162–165. (in Russ.)
38. Kuznetsov V. A. Sravnitel'naya otsenka krovekapel'noi reaktsii agglutinatsii i allergicheskoi proby pri diagnostike tuberkuleza kur = Comparative analysis of blood-drop agglutination test and allergic test for chicken tuberculosis diagnosis. *Tezisy dokladov itogovoi nauchnoi konferentsii za 1968 god = Abstracts of presentations at the final scientific conference in 1968.* Vitebsk: Vitebskii veterinarnyi institut; 1969; 33–35. Available at: <https://repo.vsvam.by/bitstream/123456789/15421/1/k-1969-1-1-33-35.pdf>. (in Russ.)
39. Bal'chyunas I. I. Comparative assessment of chicken tuberculosis and pullorum disease: author's abstract of Doctor of Science thesis (Veterinary Medicine). Kharkiv; 1974. 43 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 17.10.2022

Поступила после рецензирования / Revised 06.12.2022

Принята к публикации / Accepted 10.01.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Баратов Магомед Омарович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией инфекционной патологии сельскохозяйственных животных, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-8261-5038>,
e-mail: alama500@rambler.ru.

Magomed O. Baratov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, Head of Laboratory for Infectious Pathology of Livestock, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, Makhachkala, Republic of Dagestan, Russia;
<https://orcid.org/0000-0002-8261-5038>,
e-mail: alama500@rambler.ru.

Клинико-морфологические особенности сальмонеллеза у коров и телят на фоне теплового стресса

Л. И. Дроздова, Е. Н. Шилова, И. А. Шкуратова, М. В. Ряпосова

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

РЕЗЮМЕ

Воздействие anomalно высоких температур на Среднем Урале привело к развитию хронического теплового стресса у крупного рогатого скота. Несмотря на меры, которые принимались для защиты молочного стада от перегрева (вентиляторы, орошения прохладной водой, создание затенения дворов), тепловой стресс ослаблял иммунную систему животных, что приводило к чрезмерному увеличению популяции сальмонелл в желудочно-кишечном тракте у животных, нарушению проницаемости кишечной стенки для бактерий, а также мог быть причиной повышения вирулентности для крупного рогатого скота не свойственных им серотипов – *Salmonella choleraesuis*. Одновременное присутствие двух патогенов вида *Salmonella enterica* subsp. *enterica*: *Salmonella enteritidis* и *Salmonella choleraesuis* – вызвало комплекс клинико-морфологических изменений в организме взрослых коров. У коров инфекция проявлялась стойкой слизистой диареей, потерей уровня лактации и развитием интоксикации. У телят заболевание сопровождалось септическими явлениями, выраженной интоксикацией, гипертермией (40,5–41,0 °C), развитием значительного (более 7%) обезвоживания и гибелью. При гистологическом исследовании паренхиматозных органов коров выявлены изменения, характерные для развития патологического процесса, свойственного сальмонеллезу: в паренхиматозных органах (печени, селезенке) обнаружены специфические сальмонеллезные гранулемы. В других паренхиматозных органах (почках, сердце) обнаружен комплекс патологических процессов, характерных для сепсиса. Характер патологических изменений свидетельствует о развитии септического процесса, распространяющегося как гематогенно, так и лимфогенно, причем строение гранул, скорее всего, указывает на циркуляцию в организме крупного рогатого скота такого возбудителя, как *Salmonella choleraesuis*.

Ключевые слова: сальмонеллез, крупный рогатый скот, тепловой стресс, морфологические изменения паренхиматозных органов, сальмонеллезная гранулема

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы) по направлению «4.2.1.5 Разработка технологий прижизненного управления качеством животноводческого сырья для получения высококачественных и безопасных продуктов питания».

Для цитирования: Дроздова Л. И., Шилова Е. Н., Шкуратова И. А., Ряпосова М. В. Клинико-морфологические особенности сальмонеллеза у коров и телят на фоне теплового стресса. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 73–78. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-73-78.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Шкуратова Ирина Алексеевна, доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Уральского научно-исследовательского ветеринарного института – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, 620142, Россия, г. Екатеринбург, ул. Белинского, д. 112а, e-mail: Shkuratova@bk.ru.

Clinical and morphological features of salmonellosis in cows and calves affected by heat stress

L. I. Drozdova, E. N. Shilova, I. A. Shkuratova, M. V. Ryaposova

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

SUMMARY

Exposure to anomalously high temperatures in the Middle Urals has led to chronic heat stress in cattle. Despite the measures taken to protect the dairy herd from overheating (fans, irrigation with cool water, livestock sunshades), the heat stress undermined the immunity of animals, thus, leading to an excessive rise in *Salmonella* population in the gastrointestinal tract, increased intestinal permeability, and could also be the cause of increased virulence of such serotypes as – *Salmonella choleraesuis*, that are not typical for cattle. The simultaneous presence of two pathogens of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* species: i.e. *Salmonella enteritidis* and *Salmonella choleraesuis* – caused a number of clinical and morphological changes in adult cows. In cows, the infection manifested itself by persistent diarrhea with mucus, reduced milk production and intoxication. In calves, the disease was accompanied by septic signs, severe intoxication, hyperthermia (40.5–41.0 °C), severe dehydration (more than 7%) and death. Histopathological examination of bovine parenchymal organs revealed changes typical for salmonellosis pathological process: specific salmonella granulomas were found in parenchymal organs (liver, spleen). Some pathological processes typical for sepsis were found in other parenchymal organs (kidneys, heart). The nature of pathological changes indicates that there is a septic process that spreads both hematogenically and lymphogenically, and the structure of granulomas most likely indicates that such a pathogen as *Salmonella choleraesuis* circulates in cattle.

Keywords: salmonellosis, cattle, heat stress, morphological changes of parenchymal organs, salmonella granuloma

For citation: Drozdova L. I., Shilova E. N., Shkuratova I. A., Ryapsova M. V. Clinical and morphological features of salmonellosis in cows and calves affected by heat stress. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 73–78. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-73-78.

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

For correspondence: Irina A. Shkuratova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Ural Scientific Research Veterinary Institute – Branch of the FSBI UrFASRC, UrB of RAS, 620142, Russia, Ekaterinburg, ul. Belinsky, 112a, e-mail: Shkuratova@bk.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Сальмонеллез – одна из наиболее тяжелых токсико-инфекций человека с выраженным зооантропонозным характером передачи [1–4].

Молочный скот является постоянным резервуаром возбудителя сальмонеллеза [5–7]. Стационарность энзоотических очагов поддерживается животными-бактерионосителями, выделяющими сальмонелл в концентрации до 10^{14} КОЕ/г в день с фекалиями и 10^2 – 10^5 КОЕ/мл – с молоком и молозивом [8, 9]. Как было установлено С. L. Holschbach et al. [10], а также А. Г. Готовым с соавт. [11, 12], 20% клинически больных и 5% клинически здоровых коров периодически или постоянно выделяют бактерии во внешнюю среду. Бессимптомное носительство сальмонелл и выделение их с фекалиями у взрослого крупного рогатого скота может отмечаться на всех этапах производственного процесса. Клиническое проявление заболевания обычно ассоциируется с телятами первого месяца жизни и старше [11–15]. Тем не менее на отдельных фермах регистрируются клинические проявления сальмонеллеза у коров и, по данным некоторых исследователей [16, 17], заболевание носит сезонный характер (конец лета/осень), что может быть связано с высокой температурой окружающей среды и развитием у животных теплового стресса. При этом изоляты сальмонелл, выделенные от крупного рогатого скота при бессимптомном течении заболевания и его клиническом проявлении, обычно не отличаются по серогруппе, серотипу и чувствительности к противомикробным препаратам [15].

Энциклопедические данные по сальмонеллезу крупного рогатого скота свидетельствуют о том, что это инфекционное заболевание молодняка крупного рогатого скота с 10-суточного возраста, характеризующееся патологическим процессом в органах пищеварительной системы, а при хронизации патологического процесса – в легочной системе и практически во всех системах организма. При гистологическом исследовании органов животных, больных сальмонеллезом, основным морфологическим признаком является гранулематозный процесс в печени [10–12].

В представленной работе описан случай проявления сальмонеллеза на молочной ферме у взрослых коров и телят, который, по нашему мнению, связан с аномальными среднемесячными температурами весенне-летнего периода. При этом были установлены как клинические, так и морфологические изменения, характерные для сальмонеллеза.

Научная новизна исследования заключается в том, что у крупного рогатого скота выявлены новые не-

типичные патоморфологические признаки в виде сальмонеллезных гранул в печени, более похожих на гранулемы, встречающиеся у свиней при заражении *Salmonella choleraesuis*, формирование тромбоэндофлебитов, что также нехарактерно для крупного рогатого скота.

Цель данной работы – дать характеристику патоморфологических и гистологических признаков у крупного рогатого скота, связанных с одновременным выявлением у данных животных двух видов сальмонелл – *Salmonella enteritidis* и *Salmonella choleraesuis*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены в рамках Программы фундаментальных научных исследований в Российской Федерации на долгосрочный период (2021–2030 годы) по направлению «Разработка технологий прижизненного управления качеством животноводческого сырья для получения высококачественных и безопасных продуктов питания» в отделе ветеринарно-лабораторной диагностики с испытательной лабораторией ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, а также на базе независимой лаборатории ООО «Кволити Мед» (г. Екатеринбург).

Для микробиологического исследования от коров с клиническими признаками диареи были отобраны пробы фекальных масс индивидуально, из прямой кишки с использованием одноразовых перчаток. От павших телят отбирали образцы паренхиматозных органов (легкие, печень, селезенка, лимфатические узлы) с соблюдением правил забора биоматериала для микробиологического исследования¹. Всего были исследованы образцы от 12 животных.

Посев исследуемого биологического материала проводили на питательные среды: 5%-й агар с кровью барана (основа – колумбийский агар, Bio-Rad, Франция; кровь барана дефибринированная, E&O Laboratories Ltd, Великобритания); желточно-солевой агар (питательный агар для культивирования микроорганизмов – ГРМ-агар, ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия); хромогенный агар (UriSelect4 Agar, Bio-Rad, Франция); агар Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия); агар Сабууро с 2% глюкозы и хлорамфениколом (SIFIN diagnostics GmbH, Германия); 500 мкл засеивали в пробирку с 4,5 мл магниевой среды (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) и через 24 ч инкубации пересевали на висмут-сульфит агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия).

Затем засеянные чашки Петри помещали в термостат с аэробными условиями при температуре

¹ Правила взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторного исследования: утв. ГУВ Минсельхоза СССР 24.06.1971.

(37 ± 1) °C, чашки с кровавым агаром инкубировали в атмосфере, содержащей 5% CO₂. Посевы инкубировали в течение 72 ч с оценкой роста через 24, 48, 72 ч.

Идентификацию выросших колоний производили методом MALDI-ToF масс-спектрометрии (время-пролетная матрично-ассоциированная лазерная десорбционно-ионизационная масс-спектрометрия) на приборе Vitek® MS (bioMérieux, Франция). Для этого бактериальную массу наносили на спот слайда, покрывали 1 мкл матрицы (α -циано-3-гидроксикоричная кислота), высушивали при комнатной температуре, далее считывали прибором масс-спектры рибосомальных белков и сравнивали с базой данных с использованием программного обеспечения Myla.

Для диагностики клостридиальной инфекции при исследовании биоматериала методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали тест-наборы «РеалБест-Вет ДНК *Clostridium difficile*/*Clostridium perfringens*», для типизации клостридий по токсинообразованию применяли комплект реагентов «РеалБест-Вет ДНК *Clostridium difficile* tcdA/tcdB/CDT» (АО «Вектор-Бест», Россия). Для определения у бактерий генов резистентности Erm (A, B, C), blaCIT/blaDHA, blaCTX/blaOXA к антимикробным препаратам использовали мультиплексные тест-системы российского производства. Амплификацию в режиме реального времени проводили с применением оборудования QuantStudio™ 5 (Thermo Fisher Scientific, США).

Дополнительно исследовали образцы фекалий коров и телят с клиническими признаками диареи на наличие антигенов возбудителей ротавирусной и коронавирусной инфекции, вирусной диареи крупного рогатого скота, энтеротоксемического штамма *Escherichia coli* (K99). Исследование проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА-АГ) с использованием наборов «Rota-Corona-K99 Ag Test», «Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) Antigen Test Kit/Serum Plus» (IDEXX, США). Результаты учитывали на ридере SUNRISE (Tecan Austria GmbH, Австрия).

Проводили гистологическое исследование паренхиматозных органов и тканей взрослых коров и телят, павших с симптомокомплексом изменений, характерных для сальмонеллеза. Материал для гистологического исследования фиксировали в 10%-м водном растворе формалина, заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятым методикам и просматривали под микроскопом Olympus (Япония) при различных увеличениях от 100 до 600.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Вспышка сальмонеллеза у крупного рогатого скота впервые была зарегистрирована в сентябре 2020 г. после аномально жаркого весенне-летнего сезона, когда в Свердловской области впервые в истории наблюдений была зафиксирована положительная среднемесячная температура марта, а годовая сумма температур поставила абсолютный рекорд, составив аномальные 5,3 °C, что на 0,7 °C выше, чем прежний рекорд 2008 г.

Исследования проведены на молочном комплексе, где содержится 2500 животных. Было выявлено массовое заболевание коров 2-й и 3-й лактации и первотелок. Содержание коров беспривязное. Новорожденный молодняк выращивается индивидуально в клетках до 2-месячного возраста.

В период исследования температура воздуха в помещении, где содержались животные, достигала 29,5 °C, влажность составляла 42%, скорость движения воздуха – 0,6 м/сек. Высокая температура воздуха в совокупности с низкой влажностью и отсутствием сквозняков обусловила развитие у коров теплового стресса. У животных отмечалось учащенное дыхание до ($61,60 \pm 5,30$) дыхательных движений в минуту, одышка, частота сердечных сокращений достигала ($119,80 \pm 4,21$). По данным ряда авторов [16, 18], длительное воздействие теплового стресса на организм животного обуславливает ухудшение состояния его здоровья, снижение общей резистентности, а также репродуктивных качеств.

Программа вакцинации крупного рогатого скота на данной ферме включает применение вакцины против комплекса острых респираторных вирусных инфекций, в составе которой находится инактивированный компонент против вирусной диареи. Иммунизация производится ежегодно, начиная с 30-суточного возраста телят, с использованием тетравалентной инактивированной вакцины HIPRABOVIS® 4 (Laboratorios Hipra, S. A., Испания). Вакцинация животных против клостридиоза и сальмонеллеза не проводилась.

У коров отмечали клинические признаки, характерные для сальмонеллеза, включающие диарею слизистого характера, развитие обезвоживания первой степени (менее 5%), снижение продуктивности на 14%. Количество животных с клиническим проявлением сальмонеллеза составило 23%. Гипертермию у взрослых коров не отмечали.

На этой же ферме зарегистрированы заболевания желудочно-кишечного тракта у телят, сопровождающиеся септическими явлениями, выраженной интоксикацией, гипертермией (40,5–41,0 °C), развитием значительного (более 7%) обезвоживания и гибелью молодняка. Заболевание развивалось у 93% 7–14-суточных телят в корпусе, сопровождалось резким началом, острым течением. Летальность составила 20,8%. Гибель животных в 80% случаев отмечалась в первые 2 дня развития заболевания, у 20% телят наблюдался переход в подострое течение с падежом в возрасте 25–30 суток.

Методом ИФА-АГ было исключено наличие антигена возбудителя вирусной диареи крупного рогатого скота, который является основным конкурентом сальмонелл в развитии диарей у взрослых животных.

При проведении исследования биологического материала, полученного от коров с диареей, были выделены возбудители рода *Salmonella* вида *Salmonella enterica* subsp. *enterica*: *Salmonella enteritidis*, являющаяся патогеном крупного рогатого скота, и *Salmonella choleraesuis*, являющаяся нетипичным для этого вида животных патогеном [5, 10, 19, 20].

У телят с клиническими признаками заболевания кроме возбудителя сальмонеллеза были обнаружены ротавирус (методом ИФА-АГ) и *Clostridium perfringens* (методом ПЦР).

При гистологическом исследовании печени (рис. 1) как взрослого животного, так и телят был обнаружен специфический морфологический признак сальмонеллезной инфекции – гранулемы [21].

Причем эти гранулемы имели некоторые отличия от гранул, характерных для сальмонеллеза крупного рогатого скота. Визуализированные нами были более похожи на гранулемы, встречающиеся у свиней при

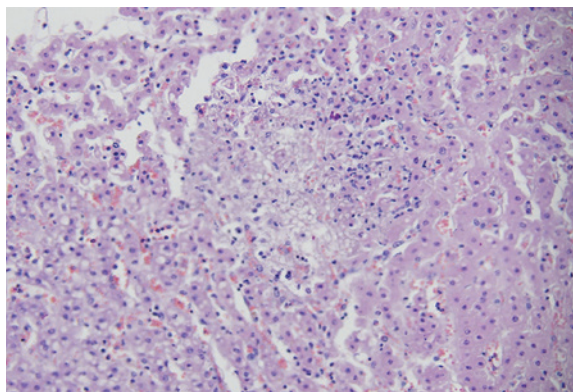


Рис. 1. Гранулема в печени. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 100х)

Fig. 1. Granuloma in the liver. Hematoxylin and eosin stain (magnification 100x)

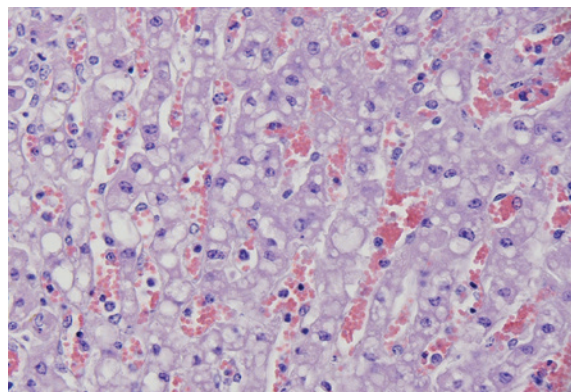


Рис. 2. Застойное полнокровие микроциркуляторного русла печени и жировой гепатоз. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 400х)

Fig. 2. Congestion in hepatic microvasculature and fatty liver. Hematoxylin and eosin stain (magnification 400x)

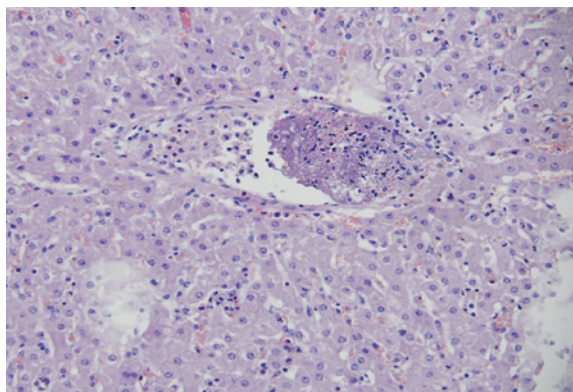


Рис. 3. Тромбоэндотелит в печени коровы (гранулема в просвете сосуда). Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 200х)

Fig. 3. Thromboendophlebitis in cow's liver (granuloma in the vessel lumen). Hematoxylin and eosin stain (magnification 200x)

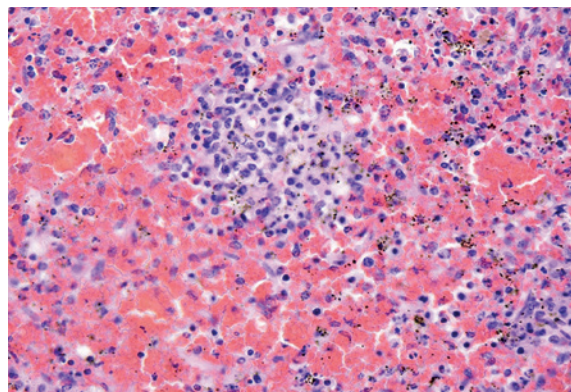


Рис. 4. Гранулема в селезенке без признаков некроза. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 200х)

Fig. 4. Granuloma in the spleen without signs of necrosis. Hematoxylin and eosin stain (magnification 200x)

заражении серотипом *Salmonella choleraesuis*. В таких гранулах преобладали признаки полного растворения клеток гранулематозной ткани по типу лизиса, но еще видны были клетки, некротизированные по типу кариорексиса и кариопикноза. При этом в печени на-

блюдали выраженное полнокровие по типу застойной гиперемии микроциркуляторного русла и признаки жирового перерождения гепатоцитов (рис. 2).

Наряду с этим характерным признаком сальмонеллеза свиней является быстрое гематогенное внутриорганное распространение инфекции с формированием тромбоэндотелитов, что для крупного рогатого скота явление довольно редкое, но обнаружено нами в препаратах печени коровы (рис. 3).

Немаловажным признаком развития сепсиса является поражение селезенки, в которой на фоне геморрагического пропитывания также обнаружены специфические сальмонеллезные гранулемы (рис. 4).

При этом в других участках селезенки были обнаружены гранулемы, представленные некротическими массами, подобными гранулемам в печени (рис. 5).

В других паренхиматозных органах – почках, сердце – был обнаружен комплекс патологических процессов, характерных для сепсиса: признаки повреждения эндотелия в виде его десквамации в просвет сосудов, фибриноидного некроза стенок сосудов, петель клубочков почки, лейкостазов, выхода единичных нейтрофилов за пределы сосудистой стенки, активация свертывающей системы – единичные тромбы в капиллярах

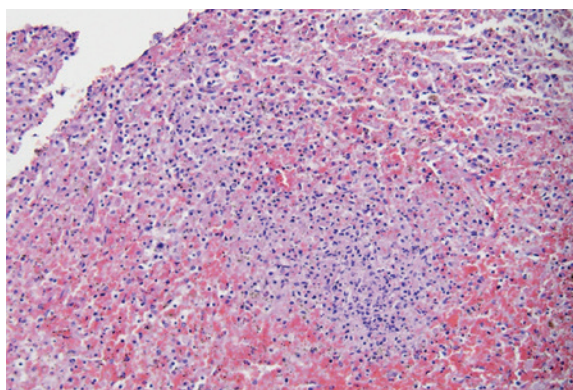


Рис. 5. Некротическая гранулема в селезенке. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 100х)

Fig. 5. Necrotizing granuloma in spleen. Hematoxylin and eosin stain (magnification 100x)

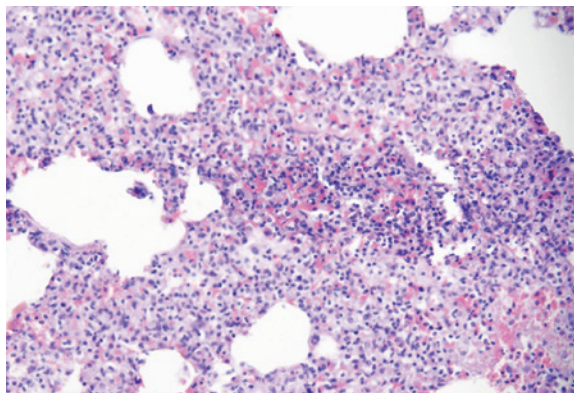


Рис. 6. Гранулематозный процесс на фоне катаральной пневмонии. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 100х)

Fig. 6. Granulomatosis caused by catarrhal pneumonia. Hematoxylin and eosin stain (magnification 100x)

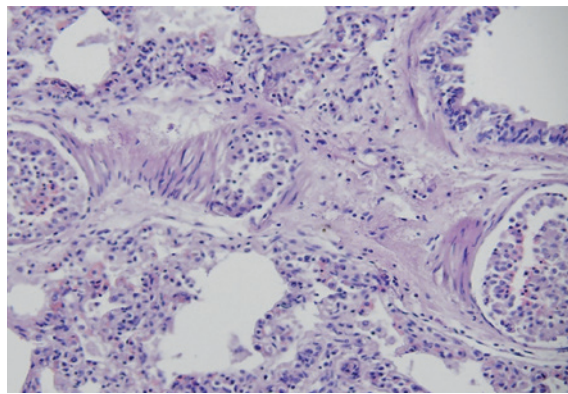


Рис. 7. Резкое расширение просвета лимфатических сосудов в разросшейся интерстициальной ткани легкого. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 200х)

Fig. 7. A sharp expansion of the lymph vessels lumen in the overgrown interstitial lung tissue. Hematoxylin and eosin stain (magnification 200x)

и венах, повышение проницаемости сосудистой стенки – диапедезные кровоизлияния. Что касается легочной ткани, в ней также выявлен гранулематозный процесс на фоне катаральной пневмонии с выраженными процессами пролиферации элементов интерстициальной соединительнотканной стромы с резким расширением просвета лимфатических сосудов и наличием клеток грануляционной ткани в них (рис. 6, 7).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Воздействие аномально высоких температур на Среднем Урале привело к развитию хронического теплового стресса у крупного рогатого скота. Несмотря на меры, предпринимаемые для защиты молочного стада от перегрева (вентиляторы, орошения прохладной водой, создание затенения дворов), тепловой стресс ослаблял иммунную систему животных, что приводило к чрезмерному увеличению популяции сальмонелл в желудочно-кишечном тракте у животных, нарушению проницаемости кишечной стенки для бактерий, а также мог быть причиной повышения вирулентности для крупного рогатого скота не свойственных им серотипов (*Salmonella choleraesuis*) [16, 17].

Одновременное присутствие двух патогенов – *Salmonella enteritidis* и *Salmonella choleraesuis* – вызвало комплекс клинико-морфологических изменений в организме взрослых коров. Инфекция проявлялась стойкой диареей, потерей уровня лактации и развитием интоксикации.

При гистологическом исследовании паренхиматозных органов коров выявлены изменения, характерные для развития патологического процесса, свойственного сальмонеллезу. Характер патологических изменений свидетельствует о развитии септического процесса, распространяющегося как гематогенно, так и лимфогенно, причем строение гранул, скорее всего, указывает на циркуляцию в организме крупного рогатого скота *Salmonella choleraesuis*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Байсарова З. Т. Сальмонеллы: классификация, антигенная структура и факторы патогенности. *Вестник Медицинского института*. 2021; 1 (19): 88–92. DOI: 10.36684/med-2021-19-1-88-92.
2. Костенко Ю. Г., Храмов М. В., Давлеев А. Д. Современные аспекты возникновения и предупреждения пищевого сальмонеллеза. *Ветеринария*. 2012; 4: 9–13. eLIBRARY ID: 17663533.

3. Мезенцев С. В. Сальмонеллез – отечественный или импортный. *Ветеринария*. 2015; 6: 30–32. eLIBRARY ID: 23568338.

4. Мезенцев С. В. Применение принципов ХАССП предприятия-ми по убою сельскохозяйственных животных. *Вестник Алтайского государственного аграрного университета*. 2015; 11 (133): 122–126. eLIBRARY ID: 24902454.

5. Van Kessel J. A., Karns J. S., Wolfgang D. R., Hovingh E., Schukken Y. H. Dynamics of *Salmonella* serotype shifts in an endemically infected dairy herd. *Foodborne Pathog. Dis.* 2012; 9 (4): 319–324. DOI: 10.1089/fpd.2011.1054.

6. Rodriguez-Rivera L. D., Wright E. M., Siler J. D., Elton M., Cummings K. J., Warnick L. D., Wiedmann M. Subtype analysis of *Salmonella* isolated from subclinically infected dairy cattle and dairy farm environments reveals the presence of both human- and bovine-associated subtypes. *Vet. Microbiol.* 2014; 170 (3–4): 307–316. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.02.013.

7. Cummings K. J., Warnick L. D., Elton M., Gröhn Y. T., McDonough P. L., Siler J. D. The effect of clinical outbreaks of salmonellosis on the prevalence of fecal *Salmonella* shedding among dairy cattle in New York. *Foodborne Pathog. Dis.* 2010; 7 (7): 815–823. DOI: 10.1089/fpd.2009.0481.

8. Безбородова Н. А. Современный подход к проблеме клостридозов в животноводстве: отбор проб, лабораторная диагностика, профилактика. *Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии»*. 2020; 3 (35): 392–402. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202003016.

9. Безбородова Н. А., Кожуховская В. В., Петропавловский М. В., Томских О. Г. Полимеразная цепная реакция в диагностике латентных, бессимптомных и хронических форм инфекционных заболеваний крупного рогатого скота. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*. 2019; 4: 30–33. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2019.4.30.

10. Holschbach C. L., Peek S. F. *Salmonella* in dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 2018; 34 (1): 133–154. DOI: 10.1016/j.cvfa.2017.10.005.

11. Глотов А. Г., Глотова Т. И. Сальмонеллез крупного рогатого скота на молочных комплексах (Обзор. Часть 1). *Ветеринария*. 2020; 2: 3–7. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.2.03-07.

12. Глотов А. Г., Глотова Т. И. Сальмонеллез крупного рогатого скота на молочных комплексах (Обзор. Часть 2). *Ветеринария*. 2020; 3: 3–7. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.3.03-07.

13. Беляев Л. И., Беляева М. М. Правильный подход к диагностике и профилактике факторных болезней животных. *Ветеринария*. 2013; 5: 14–16. eLIBRARY ID: 19033248.

14. Порываева А. П., Красноперов А. С., Томских О. Г., Лысова Я. Ю. Модель оценки риска развития осложнений при диспепсии у телят. *Аграрный вестник Урала*. 2019; 1 (180): 31–37. DOI: 10.32417/article_5ca4e6ff8e24c2.87308778.

15. Субботин В. В., Лощинин М. Н., Соколова Н. А., Коломыцев С. А. Сальмонеллезы – актуальная проблема ветеринарной медицины. *Ветеринария и кормление*. 2013; 4: 59–61. eLIBRARY ID: 20291920.

16. Рудь Е. Н., Кузьмина Е. В., Семенов М. П., Абрамов А. А., Рудь Н. А. Проблема теплового стресса в молочном животноводстве. *Ветеринария Кубани*. 2020; 3: 10–11. DOI: 10.33861/2071-8020-2020-3-10-11.

17. Edrington T. S., Ross T. T., Callaway T. R., Martinez C. H., Hume M. E., Genovese K. J., et al. Investigation into the seasonal salmonellosis in lactating dairy cattle. *Epidemiol. Infect.* 2008; 136 (3): 381–390. DOI: 10.1017/S0950268807008680.

18. Бурыков Н. П., Бурыкова М. А., Алешин Д. Е. Тепловой стресс и особенности кормления молочного скота. *Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные*. 2016; 3: 5–13. eLIBRARY ID: 26538900.

19. Семина А. Н., Абгарян С. Р. Идентификация *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhimurium* методом полимеразно цепной реакции. *Международный вестник ветеринарии*. 2018; (4): 39–43. eLIBRARY ID: 36552499.

20. Carroll L. M., Buehler A. J., Gaballa A., Siler J. D., Cummings K. J., Cheng R. A., Wiedmann M. Monitoring the microevolution of *Salmonella enterica* in healthy dairy cattle populations at the individual farm level using whole-genome sequencing. *Front. Microbiol.* 2021; 12:763669. DOI: 10.3389/fmicb.2021.

21. Pecoraro H. L., Thompson B., Duhamel G. E. Histopathology case definition of naturally acquired *Salmonella enterica* serovar Dublin infection in young Holstein cattle in the northeastern United States. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2017; 29 (6): 860–864. DOI: 10.1177/1040638717712757.

REFERENCES

1. Baisarova Z. T. Salmonells: classification, antigenic structure and factors of pathogenicity. *Vestnik Meditsinskogo instituta*. 2021; 1 (19): 88–92. DOI: 10.36684/med-2021-19-1-88-92. (in Russ.)

2. Kostenko Iu. G., Khramov M. V., Davleev A. D. The problem and prophylaxis of foodborne salmonellosis. *Veterinariya*. 2012; 4: 9–13. eLIBRARY ID: 17663533. (in Russ.)

3. Mezenzev S. V. Salmonellosis – national and import. *Veterinariya*. 2015; 6: 30–32. eLIBRARY ID: 23568338. (in Russ.)

4. Mezentsev S. V. The application of HACCP principles by farm animal slaughter companies. *Bulletin of Altai State Agricultural University*. 2015; 11 (133): 122–126. eLIBRARY ID: 24902454. (in Russ.)

5. Van Kessel J. A., Karns J. S., Wolfgang D. R., Hovingh E., Schukken Y. H. Dynamics of *Salmonella* serotype shifts in an endemically infected dairy herd. *Foodborne Pathog. Dis.* 2012; 9 (4): 319–324. DOI: 10.1089/fpd.2011.1054.

6. Rodriguez-Rivera L. D., Wright E. M., Siler J. D., Elton M., Cummings K. J., Warnick L. D., Wiedmann M. Subtype analysis of *Salmonella* isolated from subclinically infected dairy cattle and dairy farm environments reveals the presence of both human- and bovine-associated subtypes. *Vet. Microbiol.* 2014; 170 (3–4): 307–316. DOI: 10.1016/j.vetmic.2014.02.013.

7. Cummings K. J., Warnick L. D., Elton M., Gröhn Y. T., McDonough P. L., Siler J. D. The effect of clinical outbreaks of salmonellosis on the prevalence of fecal *Salmonella* shedding among dairy cattle in New York. *Foodborne Pathog. Dis.* 2010; 7 (7): 815–823. DOI: 10.1089/fpd.2009.0481.

8. Bezborodova N. A. Modern approach to the problem of clostridiosis in animal husbandry: sampling, laboratory diagnostics, prevention (overview). *Russian Journal "Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology"*. 2020; 3 (35): 392–402. DOI: 10.36871/vet.san.hyg.ecol.202003016. (in Russ.)

9. Bezborodova N. A., Kozhukhovskaya V. V., Petropavlovsky M. V., Tomskikh O. G. Polymerase chain reaction in the diagnosis of latent, asymptomatic and chronic infectious diseases of cattle. *Issues of Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2019; 4: 30–33. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2019.4.30. (in Russ.)

10. Holschbach C. L., Peek S. F. *Salmonella* in dairy cattle. *Vet. Clin. North Am. Food. Anim. Pract.* 2018; 34 (1): 133–154. DOI: 10.1016/j.cvfa.2017.10.005.

11. Glotov A. G., Glotova T. I. Cattle salmonellosis on big dairy farms (Review. P. 1). *Veterinariya*. 2020; 2: 3–7. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.2.03-07. (in Russ.)

12. Glotov A. G., Glotova T. I. Cattle salmonellosis on big dairy farms (Review. P. 2). *Veterinariya*. 2020; 3: 3–7. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.3.03-07. (in Russ.)

13. Beliaev L. I., Beliaeva M. M. Epizootic justification correct diagnostics and prevention of infectious animal diseases in factor. *Veterinariya*. 2013; 5: 14–16. eLIBRARY ID: 19033248. (in Russ.)

14. Poryvaeva A. P., Krasnoperov A. S., Tomskikh O. G., Lysova Ya. Yu. Model of estimation of risk of development of complications when dyspepsia in calves. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2019; 1 (180): 31–37. DOI: 10.32417/article_5ca4e6ff8e24c2.87308778. (in Russ.)

15. Subbotin V. V., Loschinin M. N., Sokolova N. A., Kolomytsev S. A. Salmonellosis – the actual problem of Veterinary Medicine. *Veterinaria i kormlenie*. 2013; 4: 59–61. eLIBRARY ID: 20291920. (in Russ.)

16. Rud E. N., Kuzminova E. V., Semenenko M. P., Abramov A. A., Rud N. A. Heat stress problem in dairy farming. *Veterinaria Kubani*. 2020; 3: 10–11. DOI: 10.33861/2071-8020-2020-3-10-11. (in Russ.)

17. Edrington T. S., Ross T. T., Callaway T. R., Martinez C. H., Hume M. E., Genovese K. J., et al. Investigation into the seasonal salmonellosis in lactating dairy cattle. *Epidemiol. Infect.* 2008; 136 (3): 381–390. DOI: 10.1017/S0950268807008680.

18. Buryakov N. P., Buryakova M. A., Aleshin D. E. Heat stress and heat stress and feeding features of the dairy cattle. *Russian Veterinary Journal. Productive Animals*. 2016; 3: 5–13. eLIBRARY ID: 26538900. (in Russ.)

19. Semina A. N., Abgarian S. R. Identification of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* by polymerase chain reaction. *International Journal of Veterinary Medicine*. 2018; (4): 39–43. eLIBRARY ID: 36552499. (in Russ.)

20. Carroll L. M., Buehler A. J., Gaballa A., Siler J. D., Cummings K. J., Cheng R. A., Wiedmann M. Monitoring the microevolution of *Salmonella enterica* in healthy dairy cattle populations at the individual farm level using whole-genome sequencing. *Front. Microbiol.* 2021; 12:763669. DOI: 10.3389/fmicb.2021.

21. Pecoraro H. L., Thompson B., Duhamel G. E. Histopathology case definition of naturally acquired *Salmonella enterica* serovar Dublin infection in young Holstein cattle in the northeastern United States. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2017; 29 (6): 860–864. DOI: 10.1177/1040638717712757.

Поступила в редакцию / Received 31.10.2022

Поступила после рецензирования / Revised 08.12.2022

Принята к публикации / Accepted 20.12.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Дроздова Людмила Ивановна, доктор ветеринарных наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <http://orcid.org/0000-0001-9689-1781>, e-mail: drozdova43@mail.ru.

Шилова Евгения Николаевна, доктор ветеринарных наук, доцент, ведущий научный сотрудник ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9506-6883>, e-mail: adelaida.gurgenovna@mail.ru.

Шкуратова Ирина Алексеевна, доктор ветеринарных наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Уральского научно-исследовательского ветеринарного института – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <http://orcid.org/0000-0003-0025-3545>, e-mail: info@urnivi.ru.

Ряпосова Марина Витальевна, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5699-3924>, e-mail: riaposova76@mail.ru.

Lyudmila I. Drozdova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Leading Researcher, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia; <http://orcid.org/0000-0001-9689-1781>, e-mail: drozdova43@mail.ru.

Evgenia N. Shilova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Leading Researcher, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9506-6883>, e-mail: adelaida.gurgenovna@mail.ru.

Irina A. Shkuratova, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Associate Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the Ural Scientific Research Veterinary Institute – Branch of the FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia; <http://orcid.org/0000-0003-0025-3545>, e-mail: info@urnivi.ru.

Marina V. Ryaposova, Doctor of Science (Biology), Associate Professor, Leading Researcher, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5699-3924>, e-mail: riaposova76@mail.ru.



Организация процесса перевозки живых животных в Российской Федерации

М. А. Шибаяев, И. М. Клиновицкая, А. В. Бельчихина, А. К. Караулов

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

РЕЗЮМЕ

Материалы статьи освещают вопросы организации процесса перемещения живых животных в Российской Федерации как одного из важнейших факторов эпизоотологического риска распространения возбудителей инфекционных болезней животных. Проведен анализ нормативно-законодательной базы, регламентирующей вопросы организации перевозки живых животных различными видами транспорта в стране, а также количественных данных о перемещении живых животных из государственной информационной системы в области ветеринарии «ВетИС» (компоненты «Меркурий» и «Цербер»). В рамках выполненного исследования было определено, что перемещение живых сельскохозяйственных животных по территории страны происходит всеми видами доступного транспорта: автомобильным, воздушным, железнодорожным, водным, а также способом перегона. Установлено, что основным способом перемещения живых животных по территории Российской Федерации является автомобильный транспорт. Результаты анализа демонстрируют, что за 2021 г. по территории страны было перемещено 4,49 млрд гол. животных, из которых 4,41 млрд гол. составляет живая птица, порядка 79,8 млн гол. – крупный и мелкий рогатый скот, свиньи, лошади, пушные звери и пчелы. В то же время количество оформленных ветеринарно-сопроводительных документов для целей перемещения крупного рогатого скота, птицы и свиней (т. е., по сути, самих транспортных событий или фактов перевозки животных) значительно преобладает относительно перемещения других видов животных. Выявлено, что на сегодняшний день в той или иной мере законодательно регулируется только перевозка животных железнодорожным транспортом. В работе высказаны предложения по внедрению процедур, направленных на повышение биологической безопасности процесса перевозки животных и обеспечение благополучия животных. Результаты проведенного аналитического исследования могут быть использованы в рамках оптимизации контроля процесса перевозки живых животных по территории Российской Федерации со стороны компетентных органов.

Ключевые слова: живые животные, перевозка животных, благополучие животных, ветеринарно-сопроводительные документы, контроль, биологическая безопасность

Благодарности: Работа выполнена за счет средств ФГБУ «ВНИИЗЖ» в рамках тематики научно-исследовательских работ «Ветеринарное благополучие». Авторы выражают благодарность коллективу информационно-вычислительного центра Россельхознадзора за предоставление некоторых количественных данных.

Для цитирования: Шибаяев М. А., Клиновицкая И. М., Бельчихина А. В., Караулов А. К. Организация процесса перевозки живых животных в Российской Федерации. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 79–86. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-79-86.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Шибаяев Михаил Александрович, кандидат ветеринарных наук, заведующий сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: shibaev@arriah.ru.

Organization of live animal transportation process in the Russian Federation

M. A. Shibayev, I. M. Klinovitskaya, A. V. Belchikhina, A. K. Karaulov

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

SUMMARY

The paper covers the issues of organization of live animal transportation process in the Russian Federation as one of the factors of epidemiological risk associated with the spread of infectious animal disease pathogens. The legal framework, regulating the organization of live animal transportation using different vehicles, as well as quantitative data on live animal movements, taken from state veterinary information system "VetIS" ("Mercury" and "Cerberus" components) were analyzed. The analysis showed that live farmed animals are moved using all transportation means available, motor vehicles, planes, trains, ships as well as by driving. It was established that the major means of transport used to move live animals in the territory of the Russian Federation are motor vehicles. According to the analysis results 4.49 billion animals, including 4.41 billion poultry, 79.8 million large and small ruminants, pigs, horses, fur animals and bees were moved within the country in 2021. At the same time the number of issued veterinary accompanying documents for movements of cattle, poultry and pigs (i.e. in fact the transportations themselves) is much higher than the number of movements of other species. It was revealed that today only the movement of animals by railway is regulated in one way or another. The paper presents the suggestions to introduce the procedures aimed at improvement of biological safety and animal welfare during transportation. The results of the analysis performed can be used to optimize the control of animal transportation in the territory of the Russian Federation by competent authorities.

Keywords: live animals, animal transportation, animal welfare, veterinary accompanying documents, control, biological safety

© Шибаяев М. А., Клиновицкая И. М., Бельчихина А. В., Караулов А. К., 2023

Acknowledgements: This work was funded by the FGBI "ARRIAH" within the scope of research activities "Veterinary Welfare". The authors express their gratitude to the staff of the Rosselkhoz nadzor IT Centre for some quantitative data provided.

For citation: Shibayev M. A., Klinovitskaya I. M., Belchikhina A. V., Karaulov A. K. Organization of live animal transportation process in the Russian Federation. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 79–86. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-79-86.

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

For correspondence: Mikhail A. Shibayev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Sector, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: shibaev@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Благодаря наличию современных транспортных средств и развитию логистических возможностей животных перевозят на большие расстояния в относительно короткие сроки. Частота транспортных событий в течение жизни животного может быть высокой. Наибольшей мобильностью отличаются животные, перемещаемые для участия в спортивных соревнованиях или выставочных мероприятиях. В среднем у животных, вовлеченных в производство пищевых продуктов, в течение жизни происходит от трех до четырех транспортных событий [1].

Вместе с животными и продукцией животноводства на значительные расстояния, преодолевая физические и административные границы, могут перемещаться и возбудители инфекционных болезней. Несмотря на существующие механизмы контроля перемещения животноводческих грузов, сохраняется определенная вероятность распространения возбудителей болезней животных на благополучные в эпизоотологическом отношении территории. Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (ФАО) описывает перевозку животных как событие, «идеально подходящее для распространения болезней». Причем это может происходить под влиянием различных как контролируемых, так и неконтролируемых факторов. Например, перемещение животных с латентной или инappарантной формой инфекции, при необъективных результатах лабораторных исследований, неполноценном клиническом обследовании животных, нарушении режимов карантинирования и т. д. Также немаловажное значение имеет нелегальное перемещение живых животных и животноводческой продукции, инфицированных или контаминированных возбудителями болезней, при котором происходит неконтролируемое распространение инфекционных заболеваний на значительные расстояния и в различных направлениях [2–6].

Наличие определенного количества транспортных событий в жизни животных и факт того, что каждое событие дает возможность распространения инфекционной болезни, подчеркивает необходимость обеспечения надлежащих мер биологической безопасности при перемещении животных [1, 6].

Целью данной работы явился анализ мер по обеспечению биологической безопасности процесса перемещения живых животных по территории Российской Федерации и выработка предложений по корректировке и оптимизации данного процесса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Теоретической основой исследования явился анализ нормативно-законодательной базы, регламентирующей вопросы организации перевозки живых животных различными видами транспорта в Российской Федерации.

Практической основой для анализа количественных данных о перемещении живых животных по территории Российской Федерации в 2021 г. послужила официальная информация из государственной информационной системы в области ветеринарии «ВетИС» (компоненты «Меркурий» и «Цербер»).

Обработка количественных (числовых) данных проводилась с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel.

В исследовании использовали общепринятые методы анализа данных: обобщение и формализация информации, методы сравнительного анализа и описательной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Количественно-видовая структура перемещаемых по территории Российской Федерации животных. Был проведен анализ перемещенных в 2021 г. по территории Российской Федерации живых сельскохозяйственных животных, таких как крупный и мелкий рогатый скот (КРС, МРС), свиньи, лошади, птица (куры, гуси, утки, индюки), пушные звери (кролики, лисицы, норки, песцы), а также пчелы. При этом не имела значения категоризация выбранных видов животных по направлению и целям содержания: племенные, убойные, пользовательные.

Единицами измерения в анализе явились головы животных, за исключением пчел, учет которых осуществлялся пчелосемьями/пчелопакетами. В результате далее по тексту работы будем оперировать термином «голова животных» с учетом указанных выше допущений. Выбор данных категорий животных обусловлен результатами предварительного анализа, показывающего, что именно представленные группы животных обеспечивают абсолютное большинство в объеме перемещаемых живых животных, т. е. влияние других животных на полученные результаты является малозначимым.

Результаты проведенного анализа демонстрируют колоссальное количество перемещенных различными видами транспорта животных (рис. 1).

Так, за указанный временной период было перемещено 4,49 млрд гол. животных, из которых 98,2%

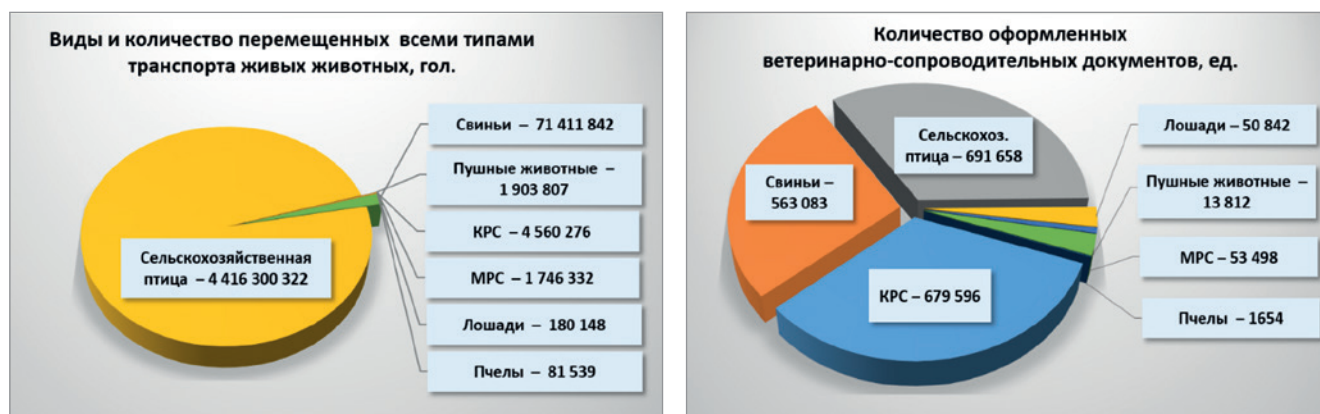


Рис. 1. Объемы перемещенных по территории Российской Федерации живых животных в 2021 г.

Fig. 1. Number of live animals moved in the territory of the Russian Federation in 2021

составляет живая птица (4,41 млрд гол.), количество остальных взятых в исследование животных было порядка 79,8 млн гол. Следует также принимать во внимание то обстоятельство, что в течение определенного времени одни и те же животные могут быть перемещены несколько раз в зависимости от особенностей производственного цикла их выращивания и убоя. Так как в данном случае говорим о количестве перемещенных животных, то, естественно, количество операций по их перемещению будет несоизмеримо меньше, поскольку в основной массе случаев животные перемещаются партиями, и ветеринарно-сопроводительная документация (ВСД) оформляется на всю партию, а не на отдельную особь. Последнее более характерно при перемещении домашних животных, т. е. животных-компаньонов, а также в случае перемещения животных для личного пользования и отдельных особей, представляющих особую племенную ценность.

Проведенный анализ данных показал, что наибольшее количество ВСД было оформлено для целей перемещения крупного рогатого скота, птицы и свиней, которое значительно превалирует относительно перемещения других видов животных в десятки и сотни раз (рис. 1). Это необходимо учитывать при организации и проведении надзорных мероприятий за перемещением живых животных по территории Российской Федерации, а также при прогнозировании эпизоотической ситуации на определенной территории и в стране в целом, поскольку перемещение живых животных

следует рассматривать как социальный/хозяйственный фактор или обстоятельство, которое определяет вероятность осложнения эпизоотической ситуации, т. е. перемещение животных – не что иное, как фактор эпизоотологического риска.

Способы перемещения животных по территории Российской Федерации. Ввиду того, что перевозка различных видов животных осуществляется разными видами транспорта, был проведен анализ способов перемещения живых животных по территории страны.

Представленные на рисунке 2 данные показывают, что перемещение животных по территории страны в абсолютном большинстве случаев осуществляется автомобильным транспортом (99,9% от общего числа перемещенных животных). Из числа животных, перевезенных другими видами транспорта, наибольшее количество перемещено методом перегона или при использовании общественного транспорта – чуть более 6 млн гол. Что касается количества оформленных ВСД для перемещения животных различными видами транспорта, наибольшее количество документов было оформлено в целях перемещения животных автомобильным транспортом (порядка 2 млн ВСД) и общественным транспортом/перегоном (около 73 тыс. ВСД).

Для определения видовой структуры животных, перемещаемых по территории страны различными видами транспорта, был проведен анализ имеющихся количественных данных. Результаты показали, что сельскохозяйственная птица (включая суточных



Рис. 2. Способы перемещения по территории Российской Федерации живых животных в 2021 г.

Fig. 2. Means of transport used to move live animals in the territory of the Russian Federation in 2021

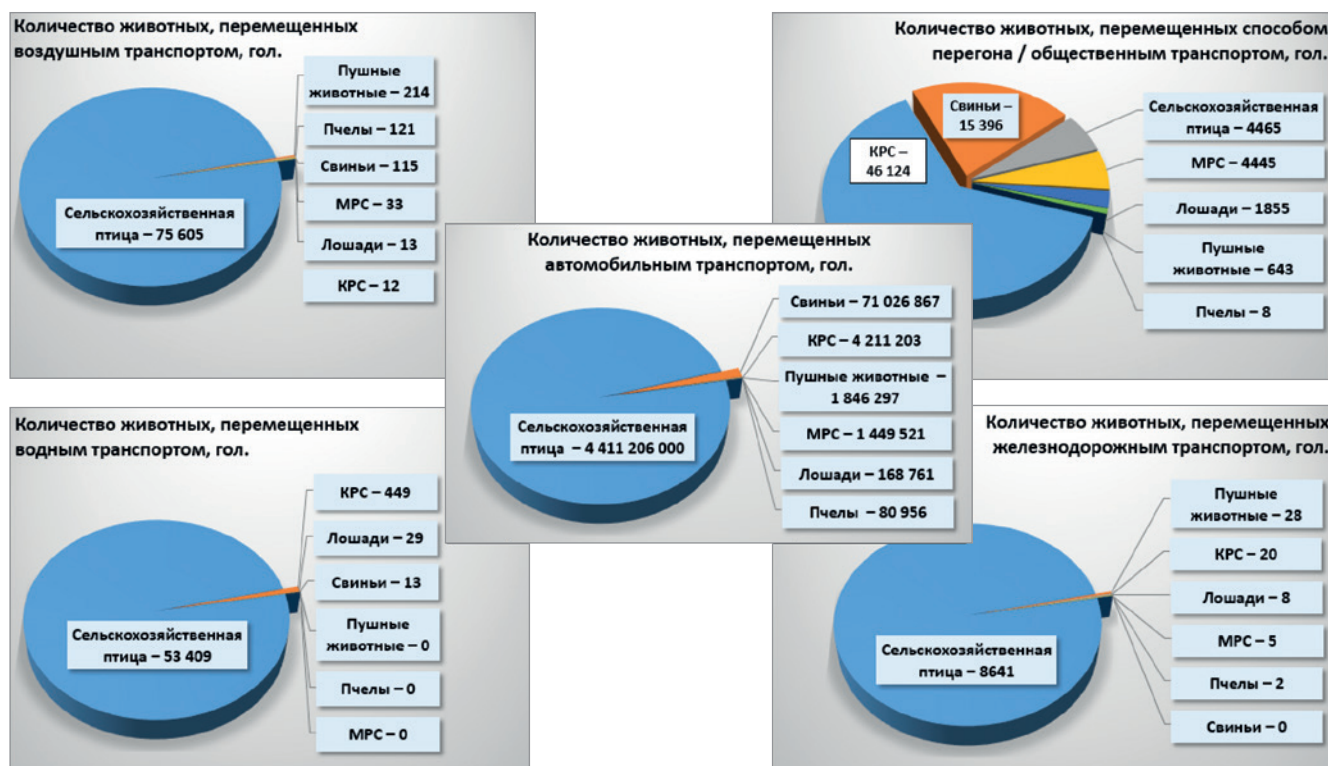


Рис. 3. Количественно-видовое распределение животных, перемещенных различными видами транспорта по территории Российской Федерации в 2021 г.

Fig. 3. Species and quantitative distribution of animals moved by different means of transport in the territory of the Russian Federation in 2021

цыплят) является основной категорией животных, перемещаемых воздушным, железнодорожным, автомобильным и водным транспортом. Отдельно стоит отметить перемещение животных способом перегона или общественным транспортом, посредством которых в подавляющем большинстве случаев перемещаются крупный рогатый скот и свиньи. Другие виды животных перемещаются таким образом значительно реже. Более детальные результаты анализа представлены на рисунке 3.

Что же касается числа и соотношения оформленных ВСД на перемещаемые виды животных различными типами транспорта, т. е., по сути, самих транспортных событий или фактов перевозки животных, то принципиально картина количественно-видового распределения не отличается от той, что отражена на рисунке 3, за исключением разрядности числовых данных.

На основании полученных результатов анализа можно сделать логичный вывод о том, что в целях контроля за перемещением живых животных по территории Российской Федерации наибольшее количество ресурсов (организационных, людских, материальных и т. д.) необходимо предусматривать именно на автомобильном и в определенной степени на общественном транспорте – как основных видах транспорта, используемых для перемещения животных, а следовательно, являющихся и ведущими факторами эпизоотологического риска распространения возбудителей болезней животных. Однако перераспределение и концентрация ресурсов на указанных направлениях не должны оказывать влияние и ослаблять контроль за перемещением животных другими видами транспорта. Кроме того, контроль

за перемещением животных следует организовывать и корректировать с учетом полученных в настоящей работе сведений, т. е. с учетом видовой структуры животных, перемещаемых тем или иным видом транспорта.

Законодательные аспекты перемещения животных в Российской Федерации. Как показано в предыдущем разделе данной работы, перемещение животных по территории Российской Федерации осуществляется при помощи различных видов транспорта (автомобильного, железнодорожного, водного, воздушного), а также способом перегона и с использованием общественного транспорта. Не вызывает сомнений, что перевозка животных должна осуществляться с соблюдением определенных требований и правил, направленных на:

- превенцию распространения возбудителей болезней животных, когда перемещаемое животное выступает в роли потенциального источника таких патогенов;
- защиту перемещаемого животного от воздействия патогенов внешней среды;
- обеспечение благополучия животного во время транспортировки, т. е. создание оптимально комфортных условий транспортировки и соблюдения «пяти свобод»: свободы от голода и жажды, свободы от дискомфорта, свободы от боли и увечий, свободы от страха и стресса, свободы вести себя естественно [7].

Исследование законодательства Российской Федерации по данному направлению показало, что в настоящее время перемещение животных по территории страны в целом регулируется положениями Закона РФ от 14.05.1993 № 4979-1 «О ветеринарии» [8]. В частности, статья 13 данного закона указывает, что перевозка или

перегон животных должны осуществляться по согласованному с органами, осуществляющими федеральный государственный ветеринарный контроль (надзор), маршрутам и с соблюдением требований по предупреждению возникновения и распространения болезней животных. Действительно, перемещение живых животных (как, впрочем, и других подконтрольных товаров) по территории Российской Федерации в настоящее время осуществляется согласно «Ветеринарным правилам проведения регионализации территории Российской Федерации» и «Решению об установлении статусов регионов Российской Федерации по различным болезням животных и условиях перемещения подконтрольных госветнадзору товаров» (утвержденному Россельхознадзором 20.01.2017) [9, 10], которые устанавливают порядок регионализации территории Российской Федерации и детальный порядок перемещения подконтрольных товаров в соответствии со статусами регионов страны по болезням животных. Несмотря на то что указанные документы содержат определенные требования к процессу фактического перемещения животных, они носят рамочный и ограниченный характер. Возможно, более детальная трактовка указанных требований и не являлась целью при разработке и введении в действие данных документов. Дело в том, что на момент их издания в стране действовал ряд нормативных документов, регулирующих рассматриваемый процесс, т. е. процесс фактического перемещения животных.

Так, базовым и основополагающим документом, регулирующим перевозку животных железнодорожным транспортом, являются «Правила перевозок железнодорожным транспортом животных» [11]. Анализ указанных правил показал, что, несмотря на то что они не являются ветеринарными и утверждены Министерством транспорта РФ, в них содержатся минимально необходимые положения для регуляции порядка и условий перевозки животных железнодорожным транспортом, в том числе и в вопросах ветеринарно-санитарной составляющей.

Что касается перевозок животных воздушным транспортом, то до недавнего времени данный процесс регулировался положениями «Руководства по грузовым перевозкам на внутренних воздушных линиях Союза ССР» [12]. Данное руководство содержало определенные требования к осуществлению перевозок животных посредством воздушных судов, однако с 18.10.2021 данный документ утратил силу на территории Российской Федерации.

Несмотря на то что по территории страны животные перемещаются в том числе и посредством водного транспорта, правил, регулирующих данный процесс, в открытых источниках не найдено.

Что касается правил перевозки сельскохозяйственных животных общественным транспортом и перемещения методом перегона, то действующих нормативных документов в открытых источниках также не обнаружено. Стоит отметить, что действовавшие ранее «Временные ветеринарно-санитарные правила при организации перегона (перевозки) сельскохозяйственных животных на отгонные пастбища» [13] с апреля 2020 г. утратили силу на территории Российской Федерации.

Перевозка животных автомобильным транспортом до недавнего времени регулировалась положениями

«Ветеринарно-санитарных правил перевозки животных, птицы, рыбы, продуктов и сырья животного происхождения автомобильным транспортом» (утвержденных Госагропромом СССР 30.01.1986 № 432-5) [14]. Указанные правила достаточно детально регламентировали процесс перевозки животных с учетом их вида, количества, длительности перевозки и т. д. Однако в 2020 г. документ также утратил силу на территории Российской Федерации.

Также до 2018 г. действовали «Общие правила перевозок грузов автомобильным транспортом» [15], которые содержали минимальные требования как в целом к перевозке животных, так и частные требования к техническому состоянию транспортных средств. Однако в 2018 г. данные правила утратили силу, и в настоящий момент действующим документом является Постановление Правительства РФ от 21.12.2020 № 2200 «Об утверждении Правил перевозок грузов автомобильным транспортом и о внесении изменений в пункт 2.1.1 Правил дорожного движения Российской Федерации» [16]. Но при этом применительно к перевозке живых животных указанный документ содержит лишь упоминание о том, что для перевозки животных требуются специализированные транспортные средства, а также указание на то, что после перевозки животных и птицы транспортные средства и контейнеры должны быть промыты и при необходимости продезинфицированы. Законодательное регулирование процесса перемещения животных должно охватывать весь процесс перемещения животных. В том числе государственное регулирование должно распространяться и на сами транспортные средства. Однако вышеупомянутое Постановление Правительства не раскрывает термин «специализированное транспортное средство для перевозки животных» и не содержит требований к таким транспортным средствам. В целом на сегодняшний день отсутствуют действующие нормативные документы, содержащие требования к автотранспортным средствам для перевозки животных. Данное обстоятельство диктует необходимость оперативной коррекции законодательного пробела применительно к рассматриваемой ситуации. При этом возможно внесение дополнений и изменений как в действующие нормативные акты, так и разработка самостоятельного отдельного документа. В любом случае государственное регулирование должно затрагивать такие аспекты перемещения, как:

- требования к перемещаемым животным с учетом их видовозрастных характеристик, физиологического состояния и статуса в отношении болезней животных, в том числе инфекционного характера;
- требования к транспортному средству и сопровождающему животных персоналу;
- требования к процессу погрузки и выгрузки животных;
- требования к условиям перевозки (плотность размещения в транспортном средстве, режимы кормления, поения и отдыха животных, фиксация и клетки/контейнеры и др.).

Иными словами, данный документ должен содержать необходимые и достаточные требования, позволяющие обеспечить надлежащий уровень биобезопасности и биозащиты животных, минимизацию зоонозных рисков, защиту от экстремальных условий окружающей среды, а также создание условий транспортировки, гарантирующих соблюдение указанных

выше «пяти свобод». Кроме того, в документе должны быть учтены физиологические особенности и поведенческие потребности разных видов животных, в том числе диких и водных, а также рыб и насекомых.

Ввиду высокой значимости и актуальности вопроса отдельно остановимся лишь на требованиях к транспортному средству и сопровождающему животных персоналу. В частности, по нашему убежденному мнению и с учетом зарубежного опыта, необходимо внедрить на территории страны следующие процедуры:

- деятельность по перевозке животных должна подлежать лицензированию со стороны государства с выдачей разрешительных документов;

- авторизованные перевозчики должны быть внесены в соответствующую базу данных, которая доступна для заинтересованных сторон;

- авторизованные перевозчики в обязательном порядке должны вести путевой журнал установленного образца;

- транспортное средство должно подлежать обязательной сертификации со стороны компетентного органа государства;

- транспортное средство должно быть спроектировано, сконструировано и эксплуатироваться таким образом, чтобы свести к минимуму риск травмирования животных и обеспечить их безопасность;

- транспортное средство должно быть оборудовано системами поения и кормления животных, а также системами вентиляции и мониторинга температуры;

- транспортное средство должно быть сконструировано таким образом, чтобы фекалии животных, подстилка или корм не вытекали или не выпадали из него, а также была возможность проводить надлежащую очистку и дезинфекцию после каждой перевозки животных, т. е. транспортное средство должно быть изготовлено с применением материалов, выдерживающих многократную очистку и дезинфекцию;

- транспортное средство должно быть в обязательном порядке оснащено регистрирующим оборудованием и навигационной системой для отображения и записи данных о движении указанного транспортного средства, т. е. транспортные средства должны быть специализированные, промышленного изготовления, а не приспособленные для указанных целей;

- водители и обслуживающий/сопровождающий животных персонал должны пройти учебные курсы (с выдачей сертификата компетентности), ориентированные на технические и административные аспекты законодательства Российской Федерации и Евразийского экономического союза (ЕАЭС), касающиеся защиты животных во время транспортировки, и содержать как минимум такие тематические курсы, как физиология животных, практические аспекты обращения с животными, экстренная помощь животным, правила техники безопасности при работе с животными, правила действий при экстренных ситуациях и т. д.;

- перевозку живых животных должны осуществлять только авторизованные перевозчики при наличии сертифицированного транспорта, оборудования и персонала, обладающего соответствующей квалификацией;

- маршруты перевозки животных должны быть разработаны так, чтобы исключить районы/зоны, в отношении которых действуют ветеринарно-санитарные ограничения ввиду неблагополучия по какой-либо

инфекционной болезни, а также районы с плотной и/или уязвимой популяцией животных;

- маршруты перевозки должны содержать утвержденные места стоянок транспортного средства для отдыха и кормления животных;

- контрольные мероприятия со стороны компетентного органа должны быть предусмотрены на любом этапе процесса перевозки животных в целях выявления соответствия/несоответствия действующему законодательству [1, 17–21].

Предлагаемые выше процедуры должны быть интегрированы с существующей государственной информационной системой в области ветеринарии «ВетИС» и, в частности, с такими ее компонентами, как «Цербер» и «Меркурий», вовлеченных в процесс перемещения подконтрольных ветеринарной службе грузов, в том числе и живых животных, поскольку выявление несоответствия перевозчика, транспортного средства или персонала установленным требованиям автоматически означало бы запрет на перемещение живых животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенного исследования показали, что перемещение живых сельскохозяйственных животных по территории Российской Федерации происходит всеми видами доступного транспорта: автомобильным, воздушным, железнодорожным, водным, а также способом перегона животных в различном количественном соотношении. Видовое распределение перемещенных животных показывает, что сельскохозяйственная птица составляет основную массу перевозимых животных. Однако количество оформленных ветеринарно-сопроводительных документов для целей перемещения крупного рогатого скота, птицы и свиней значительно превалирует относительно перемещения других видов животных.

Фактически на сегодняшний день в той или иной мере законодательно регулируется только перемещение животных железнодорожным транспортом. В отношении перемещения животных другими видами транспорта действующих нормативных документов не выявлено. Следовательно, возникает вопрос о полноте и достаточности контроля процесса транспортировки. Особенно остро данная проблема встает по отношению перемещения животных автомобильным транспортом, являющимся способом перевозки колоссального, несоизмеримого с другими видами транспортировки, количества животных по территории страны.

Высказанные в данной работе предложения по нормативному регулированию и организации процесса перевозки животных должны явиться базовой основой, благодаря введению которой будут созданы условия для обеспечения благополучия животных во время транспортировки, защиты животных от воздействия факторов внешней среды, в том числе и возбудителей болезней животных, а также снизятся риски распространения патогенов на благополучные в эпизоотическом плане территории Российской Федерации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. National Biosecurity Standard for Livestock, Poultry and Deadstock Transportation. Режим доступа: <https://inspection.canada.ca/animal-health/terrestrial-animals/biosecurity/standards-and-principles/transportation/eng/1519235033628/1519235183948?chap=0#s3c1>.

2. FAO. Improved Animal Health for Poverty Reduction and Sustainable Livelihoods: Animal Production and Health Paper 153. Rome: FAO; 2002. 44 с. Режим доступа: <https://www.fao.org/3/y3542e/y3542e.pdf>.
3. MacDiarmid S. C. The spread of pathogens through international trade. *Introduction. Rev. Sci. Tech.* 2011; 30 (1): 13–29. DOI: 10.20506/rst.30.1.2015.
4. О состоянии эпизоотической обстановки в Российской Федерации и предпринимаемых противоэпизоотических мероприятиях по недопущению массовых заболеваний сельскохозяйственных животных: постановление Совета Федерации Федерального собрания РФ от 28.06.2017 № 207-СФ. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/456074703>.
5. Fèvre E. M., Bronsvoort B. M., Hamilton K. A., Cleaveland S. Animal movements and the spread of infectious diseases. *Trends Microbiol.* 2006; 14 (3): 125–131. DOI: 10.1016/j.tim.2006.01.004.
6. Greger M. The long haul: risks associated with livestock transport. *Biosecur. Bioterror.* 2007; 5 (4): 301–311. DOI: 10.1089/bsp.2007.0028.
7. WOAH. Terrestrial Animal Health Code. General provisions. Vol. 1. Paris; 2022. Режим доступа: <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access>.
8. О ветеринарии: Закон РФ от 14.05.1993 № 4979-1. Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_4438.
9. Об утверждении Ветеринарных правил проведения регионализации территории Российской Федерации: приказ Минсельхоза России от 14.12.2015 № 635. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/ru/fsvps/laws/4600.html>.
10. Решение об установлении статусов регионов Российской Федерации по заразным болезням животных и условиях перемещения подконтрольных госветнадзора товаров: утв. Россельхознадзором 20.01.2017. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/ru/fsvps/laws/4857.html>.
11. Об утверждении Правил перевозок железнодорожным транспортом животных: приказ Минтранса России от 19.10.2020 № 427. Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202102150021>.
12. Руководство по грузовым перевозкам на внутренних воздушных линиях Союза ССР (РГП): утв. МГА СССР 20.08.1984. Режим доступа: <https://e-ecolog.ru/docs/rwp3GKzwnyUVDsMclluCl/full>.
13. Временные ветеринарно-санитарные правила при организации перегона (перевозки) сельскохозяйственных животных на отгонные пастбища: утв. ГУВ МСХ СССР 04.09.1975. Режим доступа: <https://base.garant.ru/70502260>.
14. Ветеринарно-санитарные правила перевозки животных, птиц, рыбы, продуктов и сырья животного происхождения автомобильным транспортом: утв. Госагропромом СССР 30.01.1986 № 432-5. Режим доступа: <https://legalacts.ru/doc/veterinarno-sanitarnye-pravila-perevozki-zhivotnykh-ptitsy-ryby-produktov>.
15. Общие правила перевозок грузов автомобильным транспортом: утв. Минавтотрансом РСФСР 30.07.1971. Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_14117/05da6926bb6ffcb73fedbdc748099f1bbc9fcd98.
16. Об утверждении Правил перевозок грузов автомобильным транспортом и о внесении изменений в пункт 2.1.1 Правил дорожного движения Российской Федерации: постановление Правительства РФ от 21.12.2020 № 2200. Режим доступа: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_371981.
17. Постановление Совета (ЕС) от 22.12.2004 № 1/2005 по защите животных во время транспортировки и проведении связанных с транспортировкой операций, вносящее поправки в Директивы 64/432/ЕЕС и 93/119/ЕЕС и Постановление (ЕС) № 1255/97. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/laws/eu/1-2005.pdf>.
18. Porta F., Mertin I., Waley D. Live Animal Transport: Time to Change the Rules. Brussels; Eurogroup for Animals; 2021. Режим доступа: https://www.eurogroupforanimals.org/files/eurogroupforanimals/2021-12/2020_01_27_efa_transport_white_paper_0.pdf.
19. Lapworth J. W. Engineering and design of vehicles for long distance road transport of livestock: the example of cattle transport in northern Australia. *Vet. Ital.* 2008; 44 (1): 215–222. PMID: 20405427.
20. Mitchell M. A., Kettlewell P. J. Engineering and design of vehicles for long distance road transport of livestock (ruminants, pigs and poultry). *Vet. Ital.* 2008; 44 (1): 201–213. PMID: 20405426.
21. Fike K., Spire M. F. Transportation of cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2006; 22 (2): 305–320. DOI: 10.1016/j.cvfa.2006.03.012.
2. FAO. Improved Animal Health for Poverty Reduction and Sustainable Livelihoods: Animal Production and Health Paper 153. Rome: FAO; 2002. 44 p. Available at: <https://www.fao.org/3/y3542e/y3542e.pdf>.
3. MacDiarmid S. C. The spread of pathogens through international trade. *Introduction. Rev. Sci. Tech.* 2011; 30 (1): 13–29. DOI: 10.20506/rst.30.1.2015.
4. О состоянии эпизоотической обстановки в Россииской Федератсии i predprinimaemykh protivoeipizooticheskikh meropriyatiyakh po nedopushcheniyu massovykh zabolevaniy sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh: postanovlenie Soveta Federatsii Federal'nogo sobraniya RF ot 28.06.2017 № 207-SF = Epidemiological situation in the Russian Federation and anti-epidemic measures taken to prevent mass diseases in farmed animals: Ordinance of the Federation Council of the RF Federal Assembly No. 207-SF of 28.06.2017. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456074703>. (in Russ.)
5. Fèvre E. M., Bronsvoort B. M., Hamilton K. A., Cleaveland S. Animal movements and the spread of infectious diseases. *Trends Microbiol.* 2006; 14 (3): 125–131. DOI: 10.1016/j.tim.2006.01.004.
6. Greger M. The long haul: risks associated with livestock transport. *Biosecur. Bioterror.* 2007; 5 (4): 301–311. DOI: 10.1089/bsp.2007.0028.
7. WOAH. Terrestrial Animal Health Code. General provisions. Vol. 1. Paris; 2022. Available at: <https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access>.
8. О ветеринарии: Zakon RF ot 14.05.1993 № 4979-1 = On veterinary medicine: RF Law No. 4979-1 of 14.05.1993. Available at: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_4438. (in Russ.)
9. Ob utverzhdenii Veterinarnykh pravil provedeniya regionalizatsii territorii Rossiiskoi Federatsii: prikaz Minsel'khoza Rossii ot 14.12.2015 № 635 = On approval of veterinary rules of Russian Federation regionalization: Order of RF MoA No. 635 of 14.12.2015. Available at: <https://fsvps.gov.ru/ru/fsvps/laws/4600.html>. (in Russ.)
10. Reshenie ob ustanovlenii statusov regionov Rossiiskoi Federatsii po zaraznym boleznyam zhivotnykh i usloviyakh peremeshcheniya podkontrol'nykh gosvetnadzoru tovarov: utv. Rossel'khoz nadzorom 20.01.2017 = Decision on establishment of infectious animal disease statuses in the Russian Federation regions and movement conditions of goods regulated by state veterinary surveillance: approved by Rosselkhoz nadzor on 20.01.2017. Available at: <https://fsvps.gov.ru/ru/fsvps/laws/4857.html>. (in Russ.)
11. Ob utverzhdenii Pravil perevozok zheleznodorozhnyim transportom zhivotnykh: prikaz Mintransa Rossii ot 19.10.2020 № 427 = On approval of rules of animal transportation by railway: Order of RF Ministry of Transport No. 427 of 19.10.2020. Available at: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202102150021>. (in Russ.)
12. Rukovodstvo po gruzovym perevozкам na vnutrennikh vozdukhnykh liniyakh Soyuza SSR (RGP): utv. MGA SSSR 20.08.1984 = Guidelines on cargo transportation by USSR domestic airlines: approved by USSR Ministry of Civil Aviation on 20.08.1984. Available at: <https://e-ecolog.ru/docs/rwp-3GKzwnyUVDsMclluCl/full>. (in Russ.)
13. Vremennyye veterinarno-sanitarnyye pravila pri organizatsii pereгона (perevozki) sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh na otgonnyye pastbishcha: utv. GUV MSKh SSSR 04.09.1975 = Temporary animal health rules of driving (transportation) of farmed animals to distant pastures: approved by Chief Veterinary Department of the RF MoA on 04.09.1975. Available at: <https://base.garant.ru/70502260>. (in Russ.)
14. Veterinarno-sanitarnyye pravila perevozki zhivotnykh, ptitsy, ryby, produktov i syr'ya zhivotnogo proiskhozhdeniya avtomobil'nyim transportom: utv. Gosagropromom SSSR 30.01.1986 № 432-5 = Animal health rules of transportation of animals, poultry, fish, food products and raw materials of animal origin by motor vehicles: approved by the USSR State Agriculture Committee No. 432-5 on 30.01.1986. Available at: <https://legalacts.ru/doc/veterinarno-sanitarnyye-pravila-perevozki-zhivotnykh-ptitsy-ryby-produktov>. (in Russ.)
15. Obshchie pravila perevozok gruzov avtomobil'nyim transportom: utv. Minavtotransom RSFSR 30.07.1971 = General rules of transportation by road: approved by RSFSR Ministry of Motor Transport on 30.07.1971. Available at: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_14117/05da6926bb6ffcb73fedbdc748099f1bbc9fcd98. (in Russ.)
16. Ob utverzhdenii Pravil perevozok gruzov avtomobil'nyim transportom i o vnesenii izmenenii v punkt 2.1.1 Pravil dorozhnogo dvizheniya Rossiiskoi Federatsii: postanovlenie Pravitel'stva RF ot 21.12.2020 № 2200 = On approval of rules of cargo transportation by motor vehicles and amendment of Paragraph 2.1.1 of the Russian Federation Traffic Code: Ordinance of the RF Government No. 2200 of 21.12.2020. Available at: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_371981. (in Russ.)
17. Council Regulation (EC) No. 1/2005 of 22 December 2004 on the protection of animals during transport and related operations and amending Directives 64/432/EEC and 93/119/EC and Regulation (EC) No. 1255/97.

REFERENCES

1. National Biosecurity Standard for Livestock, Poultry and Deadstock Transportation. Available at: <https://inspection.canada.ca/animal-health/terrestrial-animals/biosecurity/standards-and-principles/transportation/eng/1519235033628/1519235183948?chap=0#s3c1>.

Available at: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/en/ALL/?uri=CELEX%3A32005R0001>.

18. Porta F., Mertin I., Waley D. Live Animal Transport: Time to Change the Rules. Brussels; Eurogroup for Animals; 2021. Available at: https://www.eurogroupforanimals.org/files/eurogroupforanimals/2021-12/2020_01_27_efa_transport_white_paper_0.pdf.

19. Lapworth J. W. Engineering and design of vehicles for long distance road transport of livestock: the example of cattle transport in northern Australia. *Vet. Ital.* 2008; 44 (1): 215–222. PMID: 20405427.

20. Mitchell M. A., Kettlewell P. J. Engineering and design of vehicles for long distance road transport of livestock (ruminants, pigs and poultry). *Vet. Ital.* 2008; 44 (1): 201–213. PMID: 20405426.

21. Fike K., Spire M. F. Transportation of cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 2006; 22 (2): 305–320. DOI: 10.1016/j.cvfa.2006.03.012.

Поступила в редакцию / Received 01.11.2022

Поступила после рецензирования / Revised 18.11.2022

Принята к публикации / Accepted 12.12.2022

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Шибяев Михаил Александрович, кандидат ветеринарных наук, заведующий сектором информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9382-0109>, e-mail: shibaev@arriah.ru.

Клиновская Ирина Михайловна, кандидат экономических наук, старший научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-5347-8620>, e-mail: klinovitskaya@arriah.ru.

Бельчихина Анастасия Владимировна, младший научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1442-2469>, e-mail: belchihina@arriah.ru.

Караулов Антон Константинович, кандидат ветеринарных наук, руководитель информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5731-5762>, e-mail: karaulov@arriah.ru.

Mikhail A. Shibayev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Sector, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9382-0109>, e-mail: shibaev@arriah.ru.

Irina M. Klinovitskaya, Candidate of Science (Economics), Senior Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-5347-8620>, e-mail: klinovitskaya@arriah.ru.

Anastasia V. Belchikhina, Junior Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1442-2469>, e-mail: belchihina@arriah.ru.

Anton K. Karaulov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5731-5762>, e-mail: karaulov@arriah.ru.



Метод анализа иерархий как инструмент поддержки принятия решений при оценке риска заноса трансграничных инфекционных болезней животных на территорию Российской Федерации и на ранее благополучные территории

Н. В. Лебедев¹, А. С. Иголкин¹, К. Н. Груздев¹, Д. Г. Спирин², М. А. Фарух², Н. В. Ермилов², Г. Г. Еремин²

¹ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

² ФГБУ «48 Центральный научно-исследовательский институт» Минобороны России (48 ЦНИИ МО РФ), г. Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Отрасль животноводства все увереннее занимает свое место в экономике Российской Федерации. Активно растет ее экспортный потенциал. Уже сейчас на внешние рынки экспортируется до 10% производимой продукции сельского хозяйства. Спрос на продовольствие стабильно увеличивается в период кризисов, что, в свою очередь, повышает роль ветеринарной службы, задачами которой является охрана территории страны от заноса заразных болезней животных из иностранных государств, реализация мероприятий по предупреждению и ликвидации инфекционных и иных болезней сельскохозяйственных, домашних, зоопарковых и других животных, пушных зверей, птиц, рыб и пчел и осуществление региональных планов ветеринарного обслуживания животноводства. В статье дается обоснование и оценка возможности использования современных методов для анализа и прогнозирования распространения заболеваемости животных, выявления причинно-следственных связей, масштаба распространения особо опасных болезней животных. Авторами предлагается к рассмотрению возможность применения математического метода анализа иерархий в качестве научно-обоснованного инструмента поддержки принятия решений при оценке риска заноса трансграничных инфекционных болезней животных на ранее благополучные территории Российской Федерации. Данный подход может быть использован в процессе выбора наиболее актуальной альтернативы из нескольких вариантов оценки риска. Метод анализа иерархий — математический инструмент качественного системного подхода к решению проблем принятия решений. Этот метод разработан американским ученым Томасом Льюисом Саати в 1970-х годах, с тех пор он активно развивается и широко используется на практике. Метод анализа иерархий можно применять не только для сравнения объектов, но и для решения более сложных проблем управления и прогнозирования.

Ключевые слова: трансграничные инфекционные болезни животных, благополучная территория, оценка риска, экономический ущерб, эпизоотическая ситуация, метод анализа иерархий, поддержка принятия решений

Благодарности: Авторы выражают благодарность руководителю информационно-аналитического центра Управления ветнадзора кандидату ветеринарных наук Антону Константиновичу Караулову.

Для цитирования: Лебедев Н. В., Иголкин А. С., Груздев К. Н., Спирин Д. Г., Фарух М. А., Ермилов Н. В., Еремин Г. Г. Метод анализа иерархий как инструмент поддержки принятия решений при оценке риска заноса трансграничных инфекционных болезней животных на территорию Российской Федерации и на ранее благополучные территории. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (1): 87–96. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-87-96.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Фарух Михаил Александрович, старший научный сотрудник отдела научно-исследовательского центра, 48 ЦНИИ МО РФ, 105005, Россия, г. Москва, e-mail: 48cnii@mail.ru.

Analytical hierarchy process as a tool supporting a decision-making for assessment of the risk of transboundary infectious animal disease introduction to the Russian Federation and previously disease-free territories

N. V. Lebedev¹, A. S. Igolkin¹, K. N. Gruzdev¹, D. G. Spirin², M. A. Farukh², N. V. Ermilov², G. G. Eremin²

¹ FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

² 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Moscow, Russia

SUMMARY

The livestock industry is increasingly taking its place in the economy of the Russian Federation. Its export potential is actively growing. Already, up to 10% of agricultural products are exported to foreign markets. The demand for food steadily increases during crises, which in turn increases the role of the veterinary

© Лебедев Н. В., Иголкин А. С., Груздев К. Н., Спирин Д. Г., Фарух М. А., Ермилов Н. В., Еремин Г. Г., 2023

service, whose tasks include protecting the country's territory from the introduction of infectious diseases of animals from foreign countries; implementation of measures to prevent and eliminate infectious and other diseases in agricultural, domestic, zoo and other animals, fur-bearing animals, birds, fish and bees, as well as the implementation of plans of the regional veterinary service in the field of animal husbandry. The article assesses the validity of the possibilities and use of modern methods of analyzing and predicting the spread of animal morbidity, identifying cause-and-effect relationships and the extent of the spread of particularly dangerous animal diseases. The authors propose to consider the possibility of using the mathematical method of hierarchy analysis as a scientifically sound decision-making support tool when assessing the risk of introducing trans-border infectious animal diseases into previously prosperous territories of the Russian Federation. This approach can be used in the process of choosing the most appropriate alternative from several risk assessment options. The Hierarchy Analysis Method (MAI) is a mathematical tool for a qualitative systematic approach to solving decision-making problems. This method was developed by the American scientist Thomas Lewis Saati in 1970, since then it has been actively developing and widely used in practice. The hierarchy analysis method can be used not only to compare objects, but also to solve more complex management and forecasting tasks.

Keywords: transboundary infectious animal diseases, disease-free territory, risk assessment, economic damage, epidemic situation, Analytical Hierarchy Process method, decision-making support

Acknowledgements: The authors express their acknowledgements to Anton K. Karaulov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Information Analysis Centre of the Veterinary Surveillance Department.

For citation: Lebedev N. V., Igolkin A. S., Gruzdev K. N., Spirin D. G., Farukh M. A., Ermilov N. V., Eremin G. G. Analytical hierarchy process as a tool supporting a decision-making for assessment of the risk of transboundary infectious animal disease introduction to the Russian Federation and previously disease-free territories. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (1): 87–96. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-1-87-96.

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

For correspondence: Mikhail A. Farukh, Senior Researcher of the Research Centre, 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, 105005, Russia, Moscow, e-mail: 48cnii@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

В Российской Федерации продолжается наращивание внутреннего производства продукции животноводства, что способствует укреплению продовольственной безопасности страны, доступности пищевых продуктов для населения, обеспечению промышленности сырьем [1]. Несмотря на то что животноводство все еще зависит от внешнеэкономических факторов, оно уверенно начинает занимать важное место в экономике страны. Активно растет экспортный потенциал. Уже сейчас на внешние рынки экспортируется до 10% производимой продукции сельского хозяйства. Как известно, спрос на продовольствие стабильно увеличивается в период кризисов. На востребованность сельскохозяйственной продукции влияет и демографический фактор. К 2030 г. в мире появится 765 млн новых потребителей, из них 340 млн человек будут жить в Африке, 126 млн – в Индии, 30 млн – в Китае [2]. Инвестиционная политика государства дала результаты – построены современные животноводческие комплексы по производству свинины, молока, мяса птицы и яиц. В то же время из-за процессов глобализации активизировалось распространение инфекционных болезней животных, включая зоонозы. В соответствии с законом РФ «О ветеринарии» задачами отрасли является охрана территории страны от заноса заразных болезней животных из иностранных государств, реализация мероприятий по предупреждению и ликвидации заразных и иных болезней животных, включая сельскохозяйственных, домашних, зоопарковых и др., пушных зверей, птиц, рыб и пчел, и осуществление региональных планов ветеринарного обслуживания животноводства. Особенностью России является наличие протяженной сухопутной границы с сопредельными

государствами, которые являются неблагополучными по трансграничным болезням животных [3].

Трансграничные болезни животных (ТБЖ) – это заболевания, протекающие в виде эпизоотий, высококонтагиозные либо трансмиссивные, имеющие потенциал к быстрому распространению, способные легко преодолевать границы стран и достигать масштабов эпидемии. Для контроля/управления, включая искоренение, ТБЖ требуют межгосударственного сотрудничества [4–6]. К ним, по определению Всемирной организации здравоохранения животных, относятся: африканская чума лошадей, африканская чума свиней (АЧС), блютанг, ньюкаслская болезнь, везикулярная болезнь свиней, везикулярный стоматит, высокопатогенный грипп птиц, геморрагическая болезнь кроликов, заразный узелковый дерматит, классическая чума свиней, контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота, лихорадка долины Рифт, оспа овец и оспа коз, чума крупного рогатого скота, чума мелких жвачных, ящур [7]. Эти инфекции несут огромные экономические потери из-за прямого и косвенного ущерба, а также введения торговых ограничений.

Так, эпизоотия классической чумы свиней 1997 г. в Нидерландах привела к уничтожению 10 млн свиней, оценочная стоимость ущерба составила 2,3 млрд долларов США [8]. В том же году ящур привел к разрушению свиноводческой отрасли Тайваня. Пострадали более 6 тыс. ферм, при этом 4 млн голов свиней подверглись депопуляции, ущерб составил 560 млн долларов США [9]. Финансовые потери после вспышки ящура в Великобритании в 2001 г. исчислялись 3,1 млрд фунтов стерлингов (4,4 млрд долларов США) только для сельскохозяйственной отрасли и пищевой промышленности [10]. В качестве примера негатив-

ного воздействия ТБЖ на экономику можно привести эпизоотию АЧС на Гаити в 1978 г. Тотальное уничтожение популяции свиней на острове привело к резкому снижению уровня жизни сельского населения [11]. Подобная ситуация повторилась в 2021 г. после заноса АЧС вначале в Доминиканскую Республику, а затем в Республику Гаити. Для своевременного купирования распространения заболеваний ТБЖ подлежат обязательной нотификации Всемирной организации здравоохранения животных [12].

Согласно приказу Министерства сельского хозяйства РФ от 09.03.2011 № 62, ТБЖ внесены в Перечень заразных и иных болезней животных [13].

Если в прошлые годы пути распространения любой инфекции ограничивались ее природными ареалами, то в новых условиях активной мировой торговли и логистических потоков естественных преград для распространения трансграничных болезней, в первую очередь зоонозных и антропонозных, практически не существует [14].

Официальная торговля животными и продуктами животноводства регулируется международным и национальными законодательствами. Однако почти невозможно контролировать незаконное перемещение животных, происходящее в процессе неформальной торговли, которое влечет за собой трансграничную передачу инфекций. Чаще всего источником заражения выступают мясные продукты, кроме того, определенную роль играют фомиты. Живые животные также служат источником ТБЖ при контакте со здоровыми на совместных пастбищах при выгульном содержании, особенно в горных районах [15, 16].

В последние годы все чаще регистрируются случаи возникновения эмерджентных инфекций. Это не только меняет географию и структуру мировой эпизоотологии, но и заставляет переосмысливать меры предотвращения заноса, распространения и способы ликвидации болезней животных, осуществлять поиск научно обоснованных подходов к принятию решений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При выполнении исследований проведен сбор и анализ информации по эпизоотической ситуации, использованию методов оценки возможностей и риска заноса инфекционных болезней животных на территорию РФ и свободные от патогенов территории страны, методов и практики принятия управленческих решений в ветеринарии и других сферах деятельности. В работе приведена характеристика ТБЖ. Применялись общепринятые методы анализа данных: обобщение и формализация, метод сравнительного анализа, методы описательной статистики.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Трансграничные болезни животных являются глобальной проблемой. В то же время имеющиеся научные публикации не отражают в полной мере эпизоотологических особенностей этих инфекций, закономерностей их распространения на уровне государства или группы государств, в т. ч. их угрозы для свободных от патогенов территорий. Важное значение для предотвращения проникновения возбудителей ТБЖ различными путями является готовность ветеринарных служб государств, регионов к надлежащему и оперативному выявлению, расследованию и контролю вспышек. Проведенный

анализ показал, что многие страны, особенно развивающиеся, не имеют достаточного ветеринарного и диагностического потенциала для выполнения необходимых действий [15, 17–24]. Однако и в развитых странах при заносе ряда особо опасных заболеваний вышеперечисленные меры оказываются неэффективными. Так, при распространении АЧС (II генотипа) в Европейском союзе и Китае ни в одной из пострадавших стран (Венгрия, Румыния, Болгария и Бельгия) источник инфекции выявить не удалось.

Используемые методы эпизоотологического анализа часто ограничиваются руководствами описательного характера. Лишь в начале XXI в. появились работы, в которых при анализе распространения эпизоотий среди сельскохозяйственных животных начали применять современные геоинформационные методы исследования, компьютерные программы и технологии (например, ArcGIS) [25, 26]. Прикладное использование геоинформационной системы в ветеринарии связано с визуализацией данных о возникновении/распространении очагов неблагополучия, созданием динамических и ситуационных карт, определением корреляции трендов заболеваемости с хозяйственными, климатическими, географическими, социальными и другими факторами [27]. Система позволяет провести анализ и спрогнозировать распространение заболеваемости, выявить причинно-следственные связи между повышенной заболеваемостью и эколого-географическими факторами риска, а также установить географические факторы локализации и масштаб распространения особо опасных заболеваний сельскохозяйственных животных для научного обоснования целевого мониторинга эпизоотической ситуации и др. [28].

Филогенетический анализ возбудителей инфекций позволяет выявить наиболее вероятные источники заноса вируса и пути его распространения. Например, филогенетический анализ британского изолята вируса ящура 2001 года показал его сходство с южноафриканским [24, 29]. Североамериканские штаммы вируса эпидемической диареи свиней оказались схожи с китайскими [30]. Генетический анализ возбудителя АЧС II генотипа из Китая показал его вероятное восточноевропейское происхождение [31].

Большая работа по обоснованию возможностей и использованию современных методов анализа для прогнозирования распространения заболеваний животных проводится сотрудниками информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ». Специалисты осуществляют сбор и анализ информации по эпизоотической ситуации в зарубежных странах, анализ риска заноса в РФ особо опасных заболеваний, в том числе при импорте/экспорте животных и сельскохозяйственной продукции, также занимаются картографированием, моделированием, созданием и поддержкой баз данных.

Надстройка для ArcGIS, помогающая в выявлении пространственно-временных закономерностей, нашла практическое применение в ветеринарии. Основанная на понятии пространственно-временного куба, она позволяет выявлять временные тренды возрастания/убывания концентрации вспышек с учетом их взаимного расположения, анализировать места и тренды возникновения горячих точек и также данных в каждой отдельной локации.

Используются встроенные инструменты геопространственной статистики ArcGIS для выявления и визуализации тенденций пространственно-временного распространения заболеваний – эллипс стандартного отклонения (Standard Deviation Ellipse), стандартное расстояние (Standard Distance), средний центр (Mean Center). Геопространственный анализ данных позволяет выявлять тенденции распространения, выделять факторы риска, прогнозировать развитие эпизоотий [28].

Географический подход помогает создавать базы данных по заболеваниям животных с геопространственной привязкой. Визуализация данных с помощью карт дает наглядное представление об эпизоотической ситуации с возможностью ее предварительного визуального анализа [32].

Для расчета прогностических значений числа очагов АЧС используют модель «пуассоновское случайное блуждание с учетом тренда». Моделирование выполняют методом симуляций Монте-Карло при 10 000 итерациях в программе @Risk. Результат моделирования представляют в виде среднего ожидаемого количества вспышек, а также 95%-го доверительного интервала [33].

Также применяют метод бифуркационного анализа [14].

Использование описательных рутинных и вновь разработанных методов позволило сделать вывод о том, что на вероятность возникновения ТБЖ влияет ряд факторов:

- наличие восприимчивых животных;
- плотность популяции животных;
- обеспечение объективного учета и идентификации животных;
- географические условия;
- климатические условия региона;
- наличие векторов передачи инфекции;
- система содержания животных и организация процесса производства животноводческой продукции;
- активность антропогенных факторов;
- используемые методы борьбы с болезнями животных;
- состояние ветеринарной службы;
- наличие нормативной базы для борьбы с ТБЖ;
- наличие и реализация федеральных и региональных программ;
- мониторинг циркуляции возбудителей инфекционных болезней животных;
- общий уровень развитости региона/страны;
- степень межведомственного взаимодействия;
- обеспечение жесткого контроля и надзора за перемещением животных и продукции животного происхождения в соответствии с решением об установлении статуса регионов РФ по заразным болезням животных и условиях перемещения подконтрольных госветнадзору товаров;
- уровень и системность разъяснительной работы с населением по вопросам опасности заразных, в т. ч. трансграничных болезней животных, экономических последствий их заноса и распространения [4, 5, 34–38].

Все описанные выше и некоторые другие математические методы анализа эпизоотической ситуации используются ветеринарной службой при оценке риска заноса ТБЖ на ранее благополучные территории РФ

и с целью своевременного предупреждения угроз их распространения. Своевременность противоэпизоотических мероприятий в случае возникновения вспышки – основной фактор недопущения распространения болезни по территории, свободной от патогена.

Риск определяется как вероятность нежелательного исхода. Этот потенциал часто используется для прогнозирования различных ситуаций.

Оценка риска – научный метод расчета вероятности вредоносного воздействия на здоровье людей, животных или экономику идентифицированного источника опасности или фактора риска, осуществляемого с максимально возможной объективностью. При этом фактор риска представляет собой любой биологический, химический или физический агент или действия, которые могут нанести вред или оказать негативное влияние на здоровье/продуктивность.

Анализ риска включает в себя три самостоятельных, но тесно связанных между собой элемента: оценка риска, контроль за фактором/факторами риска, информирование о риске.

Методологически существуют следующие варианты оценки риска: качественный, полуколичественный и количественный. Качественный метод является наиболее доступным, он позволяет получить информацию быстро и в общей форме. Данный метод анализа риска («дерево решений») предложен в США в конце 50-х годов XX века. При анализе риска заноса возбудителя, проводимом качественным методом для оценки вероятности распространения, применяется системное моделирование.

При использовании полуколичественного метода предпринимается попытка провести ранжирование уровней риска (высокий, средний, низкий) на основе балльной оценки, выводимой группой экспертов.

Стоит отметить, что количественный метод более информативен, но требует точных данных, времени и специальной подготовки [21, 39–45]. Оценка риска может помочь в выявлении путей заноса и возможного воздействия патогена. Однако количественная информация о неофициальных путях интродукции заболеваний либо отсутствует, либо бывает неполной, что затрудняет оценку фактических величин рисков. Тем не менее эти знания необходимы для создания программ информирования, профилактики и эпизоотологического надзора, основанных на рисках, которые соответствуют реальности [46].

Перечисленные методы дополняют друг друга и реализуются одновременно в процессе решения поставленной задачи (оценки риска). Качественный анализ позволяет провести оценку риска заноса заболевания на ранее благополучную территорию, количественным методом оценивают возможное распространение и ущерб от заболевания, а полуколичественным оценивают общий риск в данной ситуации [47]. Все это можно считать информационным обеспечением процесса принятия управленческого решения.

Принятие решений является самым ответственным моментом. Решение – это выбор альтернативы из множества вариантов действий для достижения поставленной цели как завершающий этап процесса управления. Принимающему решению важно иметь уверенность в том, что процедура принятия решений правильна и желательна. Основные этапы процесса принятия управленческого решения включают постановку цели,

оценку ситуации, определение проблемы и поиск способов ее разрешения [48]. Принимающий решение должен владеть методологией теоретических и практических знаний в области принятия решений, в частности в области ветеринарии, компетентно определять подходы для обеспечения благополучия территорий и недопущения проникновения возбудителей ТБЖ, уметь применять теоретические знания для анализа проявлений болезни, комплексно использовать интеллектуальные инструменты для решения возникающих практических проблем.

Метод анализа иерархий (МАИ) – математический инструмент качественного системного подхода к сложным проблемам принятия решений. Метод не предписывает лицу, принимающему решение, какого-либо «правильного» решения, а позволяет ему в интерактивном режиме найти такой вариант (альтернативу), который наилучшим образом согласуется с его пониманием сути проблемы и требованиями к ее решению. Этот метод разработан американским ученым Томасом Льюисом Саати в 1970-х [49, 50], с тех пор он активно развивается и широко используется на практике. МАИ можно применять не только для сравнения объектов, но и для решения более сложных проблем управления и прогнозирования [51].

Иерархия – система, в которой уровни расположены и пронумерованы так, что:

- 1) нижний уровень содержит альтернативы рейтинга;
- 2) узлы уровней с большими номерами могут доминировать только над узлами уровней с меньшими номерами.

Таким образом, в иерархии связи определяют пути одной направленности – от вершины к альтернативам через промежуточные уровни, которые состоят из узлов-факторов (рис.).

Основным достоинством МАИ является высокая универсальность – метод может применяться для решения самых разнообразных задач: анализа возможных сценариев развития ситуации, распределения ресурсов, составления рейтинга клиентов, а также принятия кадровых решений.

Основным недостатком МАИ является необходимость получения большого объема информации от экспертов. Метод больше всего подходит для тех случаев, когда основная часть данных базируется на предпочтениях лица, принимающего решение, в процессе выбора наилучшего варианта решения из множества альтернатив.

В типичной ситуации принятия решения:

- рассматривается несколько вариантов решения;
- задан критерий, по которому определяется, в какой мере то или иное решение является подходящим;
- известны условия, в которых решается проблема, и причины, влияющие на выбор того или иного решения.

Постановка задачи в процессе применения МАИ: пусть имеется множество альтернатив (вариантов решений): $V_1, V_2, \dots, V_n$. Для нашей цели определения риска ТБЖ – это высокий, умеренный и низкий. Каждая из альтернатив оценивается списком критериев: $K_1, K_2, \dots, K_n$. Например, в случае анализа риска заноса АЧС оценочными критериями являются: кормовая база, контакты с дикими животными, контакты с домашними животными, контакты с кровососущими насекомыми, антропогенное вмешательство, транспортный критерий и условия содержания. Требуется определить

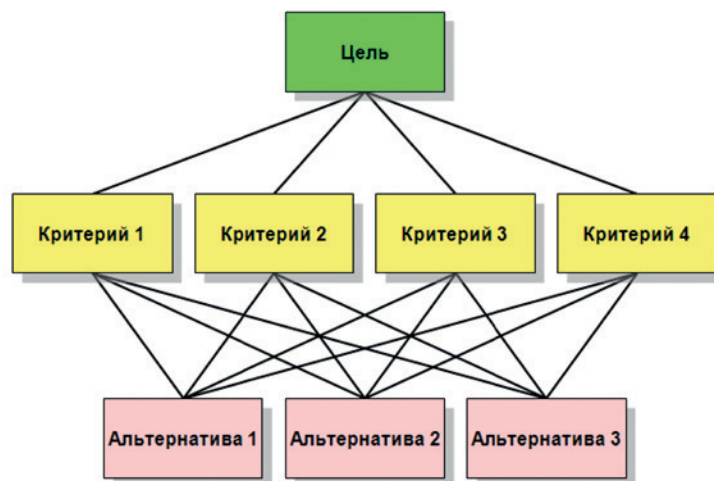


Рис. Простейшая иерархия МАИ.

Чтобы избежать беспорядка в диаграммах МАИ, связи, соединяющие альтернативы и их покрывающие критерии, часто опускаются или их количество искусственно уменьшается

Fig. Simple AHP hierarchy.

To avoid confusion in AHP diagrams, links connecting alternatives and their covering criteria are often omitted or artificially reduced in number

степень риска заноса заболевания на ранее благополучные территории.

Рассмотрим этапы применения МАИ.

Первый шаг – предварительное ранжирование критериев, в результате которого они располагаются в порядке убывания важности (значимости).

Второй шаг – попарное сравнение критериев по важности по девятибалльной шкале с составлением соответствующей матрицы (таблицы) размера $n \times n$.

Система парных сведений приводит к результату, который может быть представлен в виде обратной симметричной матрицы. Элементом матрицы (i, j) является интенсивность проявления элемента иерархии i относительно элемента иерархии j , оцениваемая по шкале интенсивности от 1 до 9, где оценки имеют следующий смысл:

- равная важность – 1;
- умеренное превосходство – 3;
- значительное превосходство – 5;
- сильное превосходство – 7;
- очень сильное превосходство – 9;
- в промежуточных случаях ставятся четные оценки – 2, 4, 6, 8.

При этом при проведении попарных сравнений элементов А и Б в основном ставятся следующие вопросы:

- какой из них важнее или имеет большее воздействие;
- какой из них более вероятен;
- какой из них предпочтительнее?

Третий шаг – формирование матрицы. Если элемент i важнее элемента j , то клетка $K_i:K_j$, соответствующая строке i и столбцу j , заполняется целым числом, а клетка $K_j:K_i$, соответствующая строке j и столбцу i , заполняется обратным числом (табл. 1).

Например, если вес критерия K_1 (кормовая база) умеренно превосходит K_4 (перемещение животных), то в клетку $K_1:K_4$ (на пересечении первой строки и четвертого столбца) ставится число 3, а в клетку $K_4:K_1$ (четвертая строка, первый столбец) – обратная

Таблица 1
Форма таблицы сравнения критериев риска заноса АЧС

Table 1
Model table for comparison of ASF introduction risk criteria

	K_1	K_2	...	K_n	Средние геометрические	Нормализованный вектор приоритетов, НВП (формула 3)
K_1						
K_2						
...						
K_n						
Итого					формула 2	
$\lambda_{\max}$	формула 4					
Индекс согласования, ИС	формула 5					
Отношение согласованности, ОС	формула 6					

величина, равная 1/3. Если же элемент j более важен, чем элемент i , то целое число ставится в клетку $K_i;K_j$, а обратная величина – в клетку $K_j;K_i$. Если считается, что i и j одинаковы, то в обе клетки ставится единица.

Заполнение таблицы проводится построчно с наиболее важного критерия. Сначала проставляют целочисленные оценки, соответствующие им дробные оценки получают автоматически (как обратные к целым числам). Чем важнее критерий, тем больше целочисленных оценок будет в соответствующей ему строке матрицы, и сами оценки будут иметь большие значения. Так как каждый критерий равен себе по важности, то главная диагональ матрицы всегда будет состоять из единиц. Очевидно, что сумма компонентов равна единице. Каждый компонент нормализованного вектора приоритетов (НВП) представляет собой оценку важности соответствующего критерия (например, 1-й компонент представляет собой оценку важности первого критерия).

Расчет среднего геометрического в каждой строке матрицы:

$$\begin{aligned} a_1 &= \sqrt[n]{\text{произведение элементов } 1^{\text{й}} \text{ строки}}; \\ a_2 &= \sqrt[n]{\text{произведение элементов } 2^{\text{й}} \text{ строки}}; \\ &\dots \\ a_n &= \sqrt[n]{\text{произведение элементов } n^{\text{й}} \text{ строки}}. \end{aligned} \quad (1)$$

Расчет суммы средних геометрических:

$$\Sigma a_j = a_1 + a_2 + \dots + a_n. \quad (2)$$

Расчет компонентов НВП:

$$\begin{aligned} 1^{\text{й}} \text{ компонент НВП} &= \frac{a_1}{(\Sigma a_j)}; \\ 2^{\text{й}} \text{ компонент НВП} &= \frac{a_2}{(\Sigma a_j)}; \\ n^{\text{й}} \text{ компонент НВП} &= \frac{a_n}{(\Sigma a_j)}. \end{aligned} \quad (3)$$

Таблица 2
Значение показателя случайной согласованности

Table 2
Random consistency index

Размер матрицы	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ПСС	0	0	0,58	0,90	1,12	1,24	1,32	1,41	1,45	1,49

Проверка согласованности локальных приоритетов путем расчета трех характеристик:

– собственное значение матрицы:

$$\lambda_{\max} = \Sigma 1^{\text{го}} \text{ столбца} \times 1^{\text{й}} \text{ НВП} + \Sigma 2^{\text{го}} \text{ столбца} \times 2^{\text{й}} \text{ НВП} + \dots + \Sigma n^{\text{го}} \text{ столбца} \times n^{\text{й}} \text{ НВП}; \quad (4)$$

– индекс согласования:

$$\text{ИС} = \frac{(\lambda_{\max} - n)}{n - 1}; \quad (5)$$

– отношение согласованности (%):

$$\text{ОС} = \frac{\text{ИС}}{\text{ПСС}}, \quad (6)$$

где ПСС – показатель случайной согласованности, определяемый теоретически для случая, когда оценки в матрице представлены случайным образом, и зависящий только от размера матрицы, как это представлено в таблице 2 (*четвертый шаг*).

Оценки в матрице считаются согласованными, если $\text{ОС} \leq 10\text{--}15\%$, в противном случае их надо пересматривать.

Пятый шаг – проводится попарное сравнение вариантов (степеней риска) по каждому критерию аналогично тому, как это делалось для критериев, и заполняются соответствующие таблицы.

Для каждой таблицы проводится проверка согласованности локальных приоритетов путем расчета трех характеристик (*этап четыре*).

На *шестом шаге* определяется общий критерий (приоритет) для каждого варианта (степеней риска):

$$K(B_1) = B_1 \text{ по } 1^{\text{му}} \text{ крит.} \times 1^{\text{й}} \text{ НВП} + B_1 \text{ по } 2^{\text{му}} \text{ крит.} \times 2^{\text{й}} \text{ НВП} + \dots + B_1 \text{ по } n^{\text{му}} \text{ крит.} \times n^{\text{й}} \text{ НВП}. \quad (7)$$

Аналогично подсчитываются $K(B_2), K(B_3) \dots K(B_k)$, при этом в выражении B_1 заменяется на $B_2, B_3 \dots B_k$ соответственно. Заполняется таблица 3.

Седьмой шаг. Определяется наилучшее решение, для которого значение K максимально.

Восьмой шаг. Проверяется достоверность решения:

– производится расчет обобщенного индекса согласования:

$$\text{ОИС} = \text{ИС}_1 \times 1^{\text{й}} \text{ компонент НВП} + \text{ИС}_2 \times 2^{\text{й}} \text{ компонент НВП} + \dots + \text{ИС}_n \times n^{\text{й}} \text{ компонент НВП}; \quad (8)$$

– рассчитывается обобщенное отношение согласованности:

$$\text{ООС} = \frac{\text{ОИС}}{\text{ОПСС}}, \quad (9)$$

где ОПСС определяется по таблице 1 на уровне ПСС для матриц сравнения вариантов по критериям. Решение считается достоверным, если $\text{ООС} \leq 10\text{--}15\%$, в противном случае нужно корректировать матрицы сравнения вариантов по критериям.

В качестве примера приведем оценку риска заноса ТБЖ на ранее благополучные территории.

Предположим, что необходимо определить степень риска заноса ТБЖ на территорию ранее благополучного региона № 1.

Таблица 3

Форма таблицы – расчета итоговых значений приоритетов

Table 3

Model table – calculation of final priorities

	K_1	K_2	...	K_n	Итоговые значения приоритетов (формула 7)
	приводятся значения 1-го компонента НВП из таблицы 2	приводятся значения 2-го компонента НВП из таблицы 2		приводятся значения n-го компонента НВП из таблицы 2	
B_1					$K(B_1) =$
B_2					$K(B_2) =$
...					...
B_k					$K(B_k) =$
ИС	приводится значение ИС ₁ по K_1	приводится значение ИС ₂ по K_2	...	приводится значение ИС _n по K_n	приводится сумма по столбцу
ОИС	рассчитывается по формуле 8				
ООС	рассчитывается по формуле 9				

Таблица 4

Сравнение критериев риска заноса ТБЖ

Table 4

Comparison of transboundary animal disease introduction risk criteria

	K_1	K_2	K_3	K_4	K_5	K_6	K_7	Средние геометрические	НВП
K_1	1	7	7	7	7	7	7	5,3	0,5
K_2	1/7	1	5	1	7	5	1	1,6	0,15
K_3	1/7	1/5	1	1/5	1/3	1/3	3	0,4	0,04
K_4	1/7	1	5	1	5	3	1	1,4	0,13
K_5	1/7	1/7	3	1/5	1	1/3	1/3	0,4	0,04
K_6	1/7	1/5	3	1/3	3	1	1	0,7	0,07
K_7	1/7	1	1/3	1	3	1	1	0,8	0,07
ИТОГ (сумма)	1,9	10,5	24,3	10,7	26,3	17,6	14,3	10,6	1
$\lambda_{\max}$	8,17								
ИС	0,19								
ОС	0,14								

14 января 2021 г. на территории сопредельного региона № 2 вблизи границы с благополучным регионом обнаружено 12 трупов диких кабанов, зараженных возбудителем ТБЖ.

25 февраля 2021 г. в колбасе, завезенной в благополучный регион № 1 из удаленного региона № 3, обнаружили геном возбудителя ТБЖ.

14 октября 2021 г. появилось сообщение о том, что ветеринары нашли в ранее благополучном регионе № 1 зараженную продукцию животноводства. Геном возбудителя ТБЖ обнаружили во время лабораторных исследований замороженного мяса, доставленного в регион № 1 из региона № 4, а туда, судя по документам, продукция попала из региона № 5.

Обозначим три альтернативы: B_1 – высокий риск, B_2 – умеренный риск и B_3 – низкий риск. Каждую из альтернатив оценим списком критериев: K_1 – кормовая база, K_2 – антропогенное вмешательство, K_3 – контакты с дикими животными, K_4 – контакты с домашними животными, K_5 – контакты с кровососущими насекомыми, K_6 – условия содержания, K_7 – транспортный.

Проведем попарное сравнение критериев по важности, используя девятибалльную шкалу, с составлением соответствующей матрицы размера 7×7 . При этом учитываем факты, изложенные в начале решения задачи.

Таблица 5

Сравнение критериев для степеней риска заноса ТБЖ

Table 5

Comparison of criteria for transboundary animal disease risk level

	B_1	B_2	B_3
K_1	7	3	1
K_2	7	3	1
K_3	7	3	1
K_4	1	1	1
K_5	1	1	1
K_6	1	1	1
K_7	7	3	1

Заполнение таблицы 4 проводится построчно, начиная с наиболее важного критерия, с использованием формул (2–6). Значение ПСС согласно таблице 2 будет равно 1,32.

Оценки в матрице можно считать согласованными, так как ОС = 0,14 укладывается в $ОС \leq 10\text{--}15\%$.

Сравнивая варианты (степени риска) между собой, будем считать их равновероятными.

Определяем наилучшее решение, для которого значение каждого из критериев максимально (табл. 5).

Исходя из максимальной суммы столбца для В₁ (31 балл), делаем вывод о высоком риске заноса на территорию свободного региона № 1 возбудителя ТБЖ.

При расчете обобщенного отношения согласованности по формуле (9) получаем ООС = 0,14%, а значит, решение можно считать достоверным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая взаимосвязанность и плотную логистическую сеть между странами в вопросах торговли живыми животными и продуктами животного происхождения, занос и дальнейшее распространение особо опасных болезней, в т. ч. трансграничных, на благополучные территории сейчас и в ближайшем будущем остается серьезной угрозой для всего животноводства.

Возможность применения метода анализа иерархий как одного из инструментов принятия решений при оценке риска возникновения и заноса трансграничных болезней животных позволит качественно представить масштаб опасности и заблаговременно провести профилактические мероприятия. При этом следует учитывать необходимость наличия достоверных сведений количественного и качественного характера при использовании данной методологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Староверов В. И., Вартанова М. Л. Продовольственная безопасность России – важная составляющая демографической политики страны. *Экономические отношения*. 2019; 9 (4): 2851–2862. DOI: 10.18334/eo.9.4.41461.
2. Вартанова М. Л. Глобальные тренды продовольственной политики и их влияние на демографическое развитие. *Экономические отношения*. 2019; 9 (4): 2877–2888. DOI: 10.18334/eo.9.4.41507.
3. О ветеринарии: закон РФ от 14.05.1993 № 4979-1. Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_4438.
4. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д. К. Львова. М.: Медицинское информационное агентство; 2013. 1200 с.
5. Инфекционная патология животных: в 2 т. Т. 1. Под ред. А. Я. Самуйленко и др. М.: Академкнига; 2006. 910 с.
6. FAO Expert Consultation on the Emergency Prevention System (EMPRES) for Transboundary Animal and Plant Pests and Diseases (Livestock Diseases Programme) including the Blueprint for Global Rinderpest Eradication and Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Prevention and control of transboundary animal diseases: report of the FAO Expert Consultation on the Emergency Prevention System (EMPRES) for Transboundary Animal and Plant Pests and Diseases (Livestock Diseases Programme) including the Blueprint for Global Rinderpest Eradication, Rome, Italy, 24–26 July 1996*. Режим доступа: <https://www.fao.org/3/W3737E/W3737E00.htm>.
7. Animal Diseases. Режим доступа: <https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/animal-diseases>.
8. Meuwissen M. P., Horst S. H., Huirne R. B., Dijkhuizen A. A. A model to estimate the financial consequences of classical swine fever outbreaks: principles and outcomes. *Prev. Vet. Med.* 1991; 42 (3–4): 249–270. DOI: 10.1016/S0167-5877(99)00079-3.
9. Yang P. C., Chu R. M., Chung W. B., Sung H. T. Epidemiological characteristics and financial costs of the 1997 foot-and-mouth disease epidemic in Taiwan. *Vet. Rec.* 1999; 145 (25): 731–734. DOI: 10.1136/vr.145.25.731.
10. Thompson D., Muriel P., Russell D., Osborne P., Bromley A., Rowland M., et al. Economic costs of the foot and mouth disease outbreak in the United Kingdom in 2001. *Rev. Sci. Tech.* 2002; 21 (3): 675–687. DOI: 10.20506/rst.21.3.1353.
11. Zepeda C., Morilla A., Yoon K.-J., Zimmerman J. The social impact of disease control and eradication programs: case studies. In: *Trends in Emerging Viral Infections of Swine*. 2002; 17–20. DOI: 10.1002/9780470376812.ch1c.
12. Макаров В. В., Грубый В. А., Груздев К. Н., Сухарев О. И. Список МЭБ и трансграничные инфекции животных: монография. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2012. 162 с.
13. Об утверждении Перечня заразных и иных болезней животных: приказ МСХ РФ от 09.03.2011 № 62. Режим доступа: <https://base.garant.ru/2174787>.
14. Дудин М. Н., Шкодинский С. В., Усманов Д. И. Бифуркационный анализ современного состояния российской экономики: влияние COVID-19 на ключевые процессы развития. *Экономические отношения*. 2022; 12 (2): 155–178. DOI: 10.18334/eo.12.2.114554.
15. Beltran-Alcrudo D., Falco J. R., Raizman E., Dietze K. Transboundary spread of pig diseases: the role of international trade and travel. *BMC Vet. Res.* 2019; 15:64. DOI: 10.1186/s12917-019-1800-5.
16. Zepeda C., Salman M., Ruppanner R. International trade, animal health and veterinary epidemiology: challenges and opportunities. *Prev. Vet. Med.* 2001; 48 (4): 261–271. DOI: 10.1016/S0167-5877(00)00200-2.
17. Алехин А. Ф., Мищенко В. А. Особенности течения чумы среди крупного рогатого скота, выпасающегося на отгонном пастбище. *Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии: материалы научной конференции ВНИИВВиМ (Псков, 13–18 апреля 1992 г.)*. Т. 1. Псков; 1992; 151–152.
18. Банди Ц. Эффективность комплексной системы противоэпизоотических мероприятий при ящуре в Монголии в 2011–2013 гг.: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Владимир; 2013. 25 с.
19. Белик Е. В., Дудников С. А., Лядский М. М., Бельчихина А. В., Гуленкин В. М., Караулов А. К., Дудорова М. В. Анализ риска заноса и распространения африканской чумы свиней на территории Владимирской области: информационно-аналитический обзор. Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ»; 2009. 97 с.
20. Bouchemla F., Agoltsov V. A., Popova O. M., Padilo L. P. Assessment of the peste des petits ruminants world epizootic situation and estimate its spreading to Russia. *Vet. World.* 2018; 11 (5): 612–619. DOI: 10.14202/vetworld.2018.612-619.
21. Гуленкин В. М., Караулов А. К., Лозовой Д. А., Захаров В. М. Экспертная оценка риска заноса ящура на территорию Российской Федерации из неблагополучных государств. *Ветеринария сегодня*. 2018; (2): 36–41. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-2-25-36-41.
22. Караулов А. К., Гуленкин В. М., Титов М. А., Захаров В. М., Дудникова Н. С., Дудников С. А. Анализ риска заноса блютанга (катаральной лихорадки овец) со скотом, импортируемым в Россию из стран Западной Европы. *Российский ветеринарный журнал. СХЖ*. 2008; Спецвыпуск (сентябрь): 33–35.
23. Кононов А. В., Караулов А. К., Гуленкин В. М., Пискунов А. В., Петрова О. Н., Спрыгин А. В. и др. Прогноз по чуме мелких жвачных животных в Российской Федерации на 2019 год. В кн.: *Прогнозы по заразным болезням животных в Российской Федерации на 2019 год*. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2018; 233–250.
24. Pharo H. J. Foot-and-mouth disease: an assessment of the risks facing New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 2002; 50 (2): 46–55. DOI: 10.1080/00480169.2002.36250.
25. Боев Б. В., Макаров В. В. Геоинформационные системы и эпидемии гриппа. *Ветеринарная патология*. 2004; 3: 51–59. eLIBRARY ID: 9165685.
26. Гинцбург А. Л., Боев Б. В. Компьютерное моделирование эпидемий. *Наука в России*. 2005; 5: 52–57. eLIBRARY ID: 17688485.
27. Бельчихина А. В., Дудорова М. В. Разработка на базе Arc GIS атласа эпидемиологических объектов Владимирской области. *Геоинформационные системы в здравоохранении РФ: данные, аналитика, решения: труды 1-й и 2-й Всероссийских конференций с международным участием (26–27 мая, 2011 г. и 24–25 мая 2012 г.)*. СПб.: Береста; 2013; 42–45.
28. Коренной Ф. И. Математико-картографическое моделирование распространения особо опасных заболеваний сельскохозяйственных животных: автореф. дис. ... канд. географ. наук. М.; 2019. 22 с.
29. Amimo J. O., Okoth E., Junga J. O., Ogara W. O., Njahira M. N., Wang Q., et al. Molecular detection and genetic characterization of kobuviruses and astroviruses in asymptomatic local pigs in East Africa. *Arch. Virol.* 2014; 159 (6): 1313–1319. DOI: 10.1007/s00705-013-1942-x.
30. Huang Y. W., Dickerman A. W., Piñeyro P., Li L., Fang L., Kiehne R., et al. Origin, evolution, and genotyping of emergent porcine epidemic diarrhea virus strains in the United States. *mBio*. 2013; 4 (5): e00737-13. DOI: 10.1128/mBio.00737-13.
31. Zhou X., Li N., Luo Y., Liu Y., Miao F., Chen T., et al. Emergence of African swine fever in China, 2018. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (6): 1482–1484. DOI: 10.1111/tbed.12989.
32. Коренной Ф. И., Петрова О. Н., Караулов А. К. Применение инструментов геопространственного анализа ГИС для выявления пространственно-временных закономерностей распространения зоонозных инфекций. Режим доступа: <https://snipchi.ru/updoc/2017/Prezentazii/Korennoy%20F.I.%20I.%20Primeneniye%20instrumentov%20geoprostanstvennogo%20analiza.pdf>.
33. Петрова О. Н., Коренной Ф. И., Караулов А. К., Шевцов А. А., Гуленкин В. М. Прогноз по африканской чуме свиней в Российской Федерации на 2020 год (итоговый вариант). Режим доступа: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/asf_prognoz2020.pdf.
34. Мищенко В. А., Павлов Д. К., Думова В. В., Никешина Т. Б., Гетманский О. И., Кононов А. В., Лисицын В. В. Экологические особенности заболеваний пищеварительной системы новорожденных телят. *Ветеринарная патология*. 2005; 3 (14): 34–38. eLIBRARY ID: 9167885.
35. Gulenkin V. M., Korennoy F. I., Karaulov A. K., Dudnikov S. A. Cartographical analysis of African swine fever outbreaks in the territory of the Russian Federation and computer modeling of the basic reproduction ratio. *Prev. Vet. Med.* 2011; 102 (3): 167–174. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2011.07.004.

36. Korennoy F. I., Gulenkin V. M., Gogin A. E., Vergne T., Karaulov A. K. Estimating the basic reproductive number for African swine fever using the Ukrainian historical epidemic of 1977. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): 1858–1866. DOI: 10.1111/tbed.12583.
37. Korennoy F. I., Gulenkin V. M., Malone J. B., Mores C. N., Dudnikov S. A., Stevenson M. A. Spatio-temporal modeling of the African swine fever epidemic in the Russian Federation, 2007–2012. *Spat. Spatiotemporal. Epidemiol.* 2014; 11: 135–141. DOI: 10.1016/j.sste.2014.04.002.
38. Vergne T., Korennoy F., Combettes L., Gogin A., Pfeiffer D. U. Modeling African swine fever presence and reported abundance in the Russian Federation using national surveillance data from 2007 to 2014. *Spat. Spatiotemporal Epidemiol.* 2016; 19: 70–77. DOI: 10.1016/j.sste.2016.06.002.
39. Дудников С. А. Количественная эпизоотология: основы прикладной эпидемиологии и биостатистики. Владимир: Демиург; 2004. 459 с.
40. Miller J., Burton K., Fund J., Self A. Process review for development of quantitative risk analyses for transboundary animal disease to pathogen-free territories. *BioResearch Open Access.* 2017; 6 (1): 133–140. DOI: 10.1089/biores.2016.0046.
41. Оганесян А. С., Баскакова Н. Е., Караулов А. К. Методические рекомендации по полуклической оценке риска при проведении импортных операций (ввоз/перемещение) с животными и продукцией животного происхождения: методический материал. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2016. 22 с.
42. Черкасский Б. Л. Риск в эпидемиологии. М.: Практическая медицина; 2007. 476 с.
43. Шевцов А. А., Караулов А. К., Дудников С. А., Титов М. А., Усов А. В., Коренной Ф. И., Бардина Н. С. Анализ риска заноса и распространения африканской чумы свиней на территорию Российской Федерации из Закавказья (ситуация на июнь 2008). Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ»; 2008. 72 с.
44. Amanatin A., Sudarnika E., Lukman D. W., Wibawan I. W. T. Risk assessment on rabies entry through hunting dog movement with semi-quantitative approach to Sumatera Island, Indonesia. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2019; 6 (2): 148–157. DOI: 10.5455/javar.2019.f325.
45. Ezell B. Homeland Security Risk Modeling. In: *Handbook of Real-World Applications in Modeling and Simulation*. Ed. by J. A. Sokolowski, C. M. Banks. John Wiley & Sons, Inc.; 2012; 129–164. DOI: 10.1002/9781118241042.ch4.
46. 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): 13–19. eLIBRARY ID: 42918095.
47. Гуленкин В. М., Коренной Ф. И., Караулов А. К. Методические рекомендации количественной (балльной) оценки мнений экспертной группы по вопросам эпизоотологии инфекционных заболеваний животных, безопасности пищевой животноводческой и рыбной продукции: утв. ФГБУ «ВНИИЗЖ» 21.09.2017 № 41-17. Владимир; 2017. 18 с.
48. Гудков П. А. Методы сравнительного анализа: учебное пособие. Под ред. А. М. Бершадского. Пенза: Пензенский гос. ун-т; 2008. 81 с.
49. Саати Т. Л. Принятие решений. Метод анализа иерархий. Пер. с англ. Р. Г. Вачнадзе. М.: Радио и связь; 1993. 278 с.
50. Саати Т. Л. Принятие решений при зависимостях и обратных связях: аналитические сети. Пер. с англ. О. Н. Андрейчиковой. М.: Либроком; 2009. 357 с.
51. Романов В. Н. Системный анализ для инженеров. СПб.: СЗГЗТУ; 2006. 186 с.
- breaks: principles and outcomes. *Prev. Vet. Med.* 1991; 42 (3–4): 249–270. DOI: 10.1016/s0167-5877(99)00079-3.
9. Yang P. C., Chu R. M., Chung W. B., Sung H. T. Epidemiological characteristics and financial costs of the 1997 foot-and-mouth disease epidemic in Taiwan. *Vet. Rec.* 1999; 145 (25): 731–734. DOI: 10.1136/vr.145.25.731.
10. Thompson D., Muriel P., Russell D., Osborne P., Bromley A., Rowland M., et al. Economic costs of the foot and mouth disease outbreak in the United Kingdom in 2001. *Rev. Sci. Tech.* 2002; 21 (3): 675–687. DOI: 10.20506/rst.21.3.1353.
11. Zepeda C., Morilla A., Yoon K.-J., Zimmerman J. The social impact of disease control and eradication programs: case studies. In: *Trends in Emerging Viral Infections of Swine*. 2002; 17–20. DOI: 10.1002/9780470376812.ch1c.
12. Makarov V. V., Grubiy V. A., Gruzdev K. N., Sukharev O. I. OIE List and transboundary animal infections: monograph. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2012. 162 p. (in Russ.)
13. Approval of the List of contagious and other animal diseases: Order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation 09.03.2011 No. 62. Available at: <https://base.garant.ru/2174787/>. (in Russ.)
14. Dudin M. N., Shkodinskiy S. V., Usmanov D. I. Bifurcation analysis of the current state of the Russian economy: the impact of COVID-19 on key development processes. *Ekonomicheskoe otnosheniya*. 2022; 12 (2): 155–178. DOI: 10.18334/eo.12.2.114554. (in Russ.)
15. Beltran-Alcrudo D., Falco J. R., Raizman E., Dietze K. Transboundary spread of pig diseases: the role of international trade and travel. *BMC Vet. Res.* 2019; 15:64. DOI: 10.1186/s12917-019-1800-5.
16. Zepeda C., Salman M., Ruppanner R. International trade, animal health and veterinary epidemiology: challenges and opportunities. *Prev. Vet. Med.* 2001; 48 (4): 261–271. DOI: 10.1016/s0167-5877(00)00200-2.
17. Alyokhin A. F., Mischenko V. A. Osobennosti techeniya chumy sredi krupnogo rogatogo skota, vypasayushchegosya na otgonnom pastbishche = Peculiarities of rinderpest course in cattle grazing on distant pastures. *Voprosy veterinarnoi. virusologii, mikrobiologii i epizootologii: materialy nauchnoi konferentsii VNIIViM (Pokrov, 13–18 aprelya 1992 g.)*. T. 1 = Aspects of Veterinary Virology, Microbiology and Epizootology: Proceedings of the ARRIV&M Conference (Pokrov, April 13–18, 1992). Vol. 1. Pokrov; 1992; 151–152. (in Russ.)
18. Bandi Ts. Effectiveness of complex system of anti-epidemic measures against foot-and-mouth disease in Mongolia in 2011–2013: Author's Abstract of Theses for degree of Candidate of Science (Veterinary Medicine). Vladimir; 2013. 25 p. (in Russ.)
19. Belik E. V., Dudnikov S. A., Lyadskiy M. M., Belchihina A. V., Gulyonkin V. M., Karaulov A. K., Dudorova M. V. Analysis of the risk of African swine fever introduction and spread in the Vladimir Oblast: information and analytical review. Vladimir; FGI "ARRIAH". 2009. 97 p. (in Russ.)
20. Bouchemla F., Agoltsov V. A., Popova O. M., Padilo L. P. Assessment of the peste des petits ruminants world epizootic situation and estimate its spreading to Russia. *Vet. World.* 2018; 11 (5): 612–619. DOI: 10.14202/vetworld.2018.612-619.
21. Gulenkin V. M., Karaulov A. K., Lozovoy D. A., Zakharov V. M. Expert risk assessment of FMD introduction to the Russian Federation from infected countries. *Veterinary Science Today*. 2018; (2): 36–41. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-2-25-36-41.
22. Karaulov A. K., Gulenkin V. M., Titov M. A., Zakharov V. M., Dudnikova N. S., Dudnikov S. A. Risk analysis of bluetongue (ovine catarrhal fever) introduction with imported cattle to Russia from Western Europe countries. *Russian Veterinary Journal Productive Animals*. 2008; Special Issue (September): 33–35. (in Russ.)
23. Kononov A. V., Karaulov A. K., Gulenkin V. M., Piskunov A. V., Petrova O. N., Sprygin A. V., et al. Prediction for peste des petits ruminants in the Russian Federation for 2019. In: *Predictions for contagious animal diseases in the Russian Federation for 2019*. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2018; 233–250. (in Russ.)
24. Pharo H. J. Foot-and-mouth disease: an assessment of the risks facing New Zealand. *N. Z. Vet. J.* 2002; 50 (2): 46–55. DOI: 10.1080/00480169.2002.36250.
25. Boev B. V., Makarov V. V. Geo-informatsionnye sistemy i epidemii grippa = Geoinformation systems and influenza epidemics. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 3: 51–59. eLIBRARY ID: 9165685. (in Russ.)
26. Gintsburg A. L., Boev B. V. Komp'yuternoe modelirovanie epidemii = Computer modeling of epidemics. *Science in Russia*. 2005; 5: 52–57. eLIBRARY ID: 17688485. (in Russ.)
27. Belchihina A. V., Dudorova M. V. Razrabotka na baze Arc GIS atlasa epidiznachimyykh ob'ektov Vladimirskoi oblasti = Development of atlas of epidemiologically-significant facilities of the Vladimir Oblast based on Arc GIS database. *Geoinformatsionnye sistemy v zdrazvookhraneni RF: dannye, analitika, resheniya: trudy 1-ii 2-i Vserossiiskikh konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem (26–27 maya, 2011 g. i 24–25 maya 2012 g.)* = Geoinformation systems in health care system of the Russian Federation: data, analytics, decisions: proceedings of the 1st and 2nd All-Russia Conferences with international participation (26–27 May, 2011 and 24–25 May, 2012). Saint Petersburg: Beresta; 2013; 42–45. (in Russ.)
28. Korennoy F. I. Mathematical and cartographic modeling of the spread of highly dangerous livestock diseases: author's thesis of Candidate of Science (Geography). Moscow; 2019. 22 p. (in Russ.)

REFERENCES

1. Staroverov V. I., Vartanova M. L. Russia's food security as an important component of the country's demographic policy. *Ekonomicheskoe otnosheniya*. 2019; 9 (4): 2851–2862. DOI: 10.18334/eo.9.4.41461. (in Russ.)
2. Vartanova M. L. Global trends in food policy and their impact on demographic development. *Ekonomicheskoe otnosheniya*. 2019; 9 (4): 2877–2888. DOI: 10.18334/eo.9.4.41507. (in Russ.)
3. Veterinary Law of the Russian Federation 14.05.1993 No. 4979-1. Available at: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_4438/. (in Russ.)
4. Virology Manual. Viruses and viral infections in humans and animals. Ed. by D. K. Lvov. Moscow: Medical Informational Agency Publishers; 2013. 1200 p. (in Russ.)
5. Animal infectious pathology in 2 vlns. Vol. 1. Ed. by A. Ya. Samuylenko et al. Moscow: Akademkniga; 2006. 910 p. (in Russ.)
6. FAO Expert Consultation on the Emergency Prevention System (EMPRES) for Transboundary Animal and Plant Pests and Diseases (Livestock Diseases Programme) including the Blueprint for Global Rinderpest Eradication and Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Prevention and control of transboundary animal diseases: report of the FAO Expert Consultation on the Emergency Prevention System (EMPRES) for Transboundary Animal and Plant Pests and Diseases (Livestock Diseases Programme) including the Blueprint for Global Rinderpest Eradication*, Rome, Italy, 24–26 July 1996. Available at: <https://www.fao.org/3/W3737E/W3737E00.htm>.
7. Animal Diseases. Available at: <https://www.woah.org/en/what-we-do/animal-health-and-welfare/animal-diseases>.
8. Meuwissen M. P., Horst S. H., Huirne R. B., Dijkhuizen A. A. A model to estimate the financial consequences of classical swine fever out-

29. Amimo J. O., Okoth E., Junga J. O., Ogara W. O., Njihira M. N., Wang Q., et al. Molecular detection and genetic characterization of kobuviruses and astroviruses in asymptomatic local pigs in East Africa. *Arch. Virol.* 2014; 159 (6): 1313–1319. DOI: 10.1007/s00705-013-1942-x.
30. Huang Y. W., Dickerman A. W., Piñeyro P., Li L., Fang L., Kiehne R., et al. Origin, evolution, and genotyping of emergent porcine epidemic diarrhea virus strains in the United States. *mBio.* 2013; 4 (5): e00737-13. DOI: 10.1128/mBio.00737-13.
31. Zhou X., Li N., Luo Y., Liu Y., Miao F., Chen T., et al. Emergence of African swine fever in China, 2018. *Transbound. Emerg. Dis.* 2018; 65 (6): 1482–1484. DOI: 10.1111/tbed.12989.
32. Korennoy F. I., Petrova O. N., Karaulov A. K. Use of the GIS geo-spatial analysis tools for identification of spatio-temporal patterns of zoonotic infection spread. Available at: <https://snipchi.ru/updoc/2017/Prezentatsii/Korennoy%20F.I.%20I.%20«Применение%20инструментов%20геопространственного%20анализа.pdf>. (in Russ.)
33. Petrova O. N., Korennoy F. I., Karaulov A. K., Shevtsov A. A., Gulenkin V. M. Prediction for African swine fever in the Russian Federation for 2020 (final version). Available at: https://fsvps.gov.ru/fsvps-docs/ru/iac/asf/publications/asf_prognoz2020.pdf. (in Russ.)
34. Mischenko V. A., Pavlov D. K., Dumova V. V., Nikeshina T. B., Getmanskiy O. I., Kononov A. V., Lisitsyn V. V. Ekologicheskie osobennosti zaboolevaniy pishchevaritel'noi sistemy novorozhdennykh telyat = Ecological peculiarities of gastro-intestinal diseases in neonatal calves. *Veterinarnaya patologiya.* 2005; 3: 34–38. eLIBRARY ID: 9167885. (in Russ.)
35. Gulenkin V. M., Korennoy F. I., Karaulov A. K., Dudnikov S. A. Cartographical analysis of African swine fever outbreaks in the territory of the Russian Federation and computer modeling of the basic reproduction ratio. *Prev. Vet. Med.* 2011; 102 (3): 167–174. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2011.07.004.
36. Korennoy F. I., Gulenkin V. M., Gogin A. E., Vergne T., Karaulov A. K. Estimating the basic reproductive number for African swine fever using the Ukrainian historical epidemic of 1977. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (6): 1858–1866. DOI: 10.1111/tbed.12583.
37. Korennoy F. I., Gulenkin V. M., Malone J. B., Mores C. N., Dudnikov S. A., Stevenson M. A. Spatio-temporal modeling of the African swine fever epidemic in the Russian Federation, 2007–2012. *Spat. Spatiotemporal. Epidemiol.* 2014; 11: 135–141. DOI: 10.1016/j.sste.2014.04.002.
38. Vergne T., Korennoy F., Combelles L., Gogin A., Pfeiffer D. U. Modeling African swine fever presence and reported abundance in the Russian Federation using national surveillance data from 2007 to 2014. *Spat. Spatiotemporal. Epidemiol.* 2016; 19: 70–77. DOI: 10.1016/j.sste.2016.06.002.
39. Dudnikov S. A. Quantitative epidemiology: basics of applied epidemiology and biostatistics. Vladimir: Demiurg; 2005. 459 p. (in Russ.)
40. Miller J., Burton K., Fund J., Self A. Process review for development of quantitative risk analyses for transboundary animal disease to pathogen-free territories. *BioResearch Open Access.* 2017; 6 (1): 133–140. DOI: 10.1089/biores.2016.0046.
41. Oganessian A. S., Baskakova N. Ye., Karaulov A. K. Methodological Guidelines for semi-quantitative assessment of the risk associated with import (entry/movements) of live animals and products of animal origin: methodical material. Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2016. 22 p. (in Russ.)
42. Cherkassky B. L. Risk in epidemiology. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2007. 476 p. (in Russ.)
43. Shevtsov A. A., Karaulov A. K., Dudnikov S. A., Titov M. A., Usov A. V., Korennoy F. I., Bardina N. S. Analysis of risk of African swine fever introduction to the Russian Federation from Transcaucasia (situation as of June 2008). Vladimir: FGBI "ARRIAH"; 2008. 72 p. (in Russ.)
44. Amanatin A., Sudarnika E., Lukman D. W., Wibawan I. W. T. Risk assessment on rabies entry through hunting dog movement with semi-quantitative approach to Sumatera Island, Indonesia. *J. Adv. Vet. Anim. Res.* 2019; 6 (2): 148–157. DOI: 10.5455/javar.2019.f325.
45. Ezell B. Homeland Security Risk Modeling. In: *Handbook of Real-World Applications in Modeling and Simulation*. Ed. by J. A. Sokolowski, C. M. Banks. John Wiley & Sons, Inc.; 2012; 129–164. DOI: 10.1002/9781118241042.ch4.
46. Terebova S. V., Koltun G. G., Podvalova V. V., Korotkova I. P. Risk analysis of the spread of african swine fever in Primorsky krai. *Agrarian bulletin of Primorye.* 2020; 1 (17): 13–19. eLIBRARY ID: 42918095. (in Russ.)
47. Gulenkin V. M., Korennoy F. I., Karaulov A. K. Methodical recommendations for quantitative (score) assessment of the expert group opinions on animal infectious disease epidemiology, animal and fish product safety: approved by FGBI "ARRIAH" 21.09.2017 No. 41-17. Vladimir; 2017. 18 p. (in Russ.)
48. Gudkov P. A. Comparative analysis methods: study guide. Ed. by A. M. Bershadskiy. Penza: Penza State University; 2008. 81 p. (in Russ.)
49. Saaty T. L. The Analytic Hierarchy Process: Planning, Priority Setting, Resource Allocation (Decision Making Series). New York: McGraw-Hill; 1980. 287 p.
50. Saaty T. L. Decision Making with Dependence and Feedback: The Analytic Network Process. Pittsburgh: Rws Publications; 1996. 370 p.
51. Romanov V. N. Systemic analysis for engineers. Saint Petersburg: NWSCTU; 2006. 186 p. (in Russ.).

Поступила в редакцию / Received 22.11.2022

Поступила после рецензирования / Revised 12.12.2022

Принята к публикации / Accepted 26.01.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Лебедев Никита Викторович, кандидат ветеринарных наук, советник директора ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3600-2409>, e-mail: lebn@yandex.ru.

Иголкин Алексей Сергеевич, кандидат ветеринарных наук, заведующий референтной лабораторией по африканской чуме свиней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>, e-mail: igolkin_as@arriah.ru.

Груздев Константин Николаевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>, e-mail: gruzdev@arriah.ru.

Спирин Дмитрий Геннадьевич, кандидат химических наук, начальник отдела научно-исследовательского центра 48 ЦНИИ МО РФ, г. Москва, Россия; e-mail: 48cnii@mil.ru.

Фарух Михаил Александрович, старший научный сотрудник отдела научно-исследовательского центра 48 ЦНИИ МО РФ, г. Москва, Россия; e-mail: 48cnii@mil.ru.

Ермилов Николай Владимирович, младший научный сотрудник отдела научно-исследовательского центра 48 ЦНИИ МО РФ, г. Москва, Россия; e-mail: 48cnii@mil.ru.

Еремин Геннадий Геннадьевич, кандидат медицинских наук, заместитель начальника научно-исследовательского центра 48 ЦНИИ МО РФ, г. Москва, Россия; AuthorID: 710033, e-mail: 48cnii@mil.ru.

Nikita V. Lebedev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Adviser to the Director, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3600-2409>, e-mail: lebn@yandex.ru.

Alexey S. Igolkin, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Reference Laboratory for African swine fever, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5438-8026>, e-mail: igolkin_as@arriah.ru.

Konstantin N. Gruzdev, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3159-1969>, e-mail: gruzdev@arriah.ru.

Dmitry G. Spirin, Candidate of Science (Chemical), Head of Department, Research Centre, 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Moscow, Russia; e-mail: 48cnii@mil.ru.

Mikhail A. Farukh, Senior Researcher, Department of the Research Centre, 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Moscow, Russia; e-mail: 48cnii@mil.ru.

Nikolay V. Ermilov, Junior Researcher, Department of the Research Centre, 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Moscow, Russia; e-mail: 48cnii@mil.ru.

Gennady G. Eremin, Candidate of Science (Medicine), Deputy Head of the Research Centre, 48th Central Research Institute of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Moscow, Russia, e-mail: 48cnii@mil.ru.



ВАКЦИНЫ ПРОИЗВОДСТВА ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

Вакцина ассоциированная против парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи и пастереллеза крупного рогатого скота инактивированная эмульсионная «БовиРес-Паст»



Иммунобиологический лекарственный препарат предназначен для профилактики ассоциации вирусных и бактериальных инфекций, представляющих группу экономически значимых болезней крупного рогатого скота и наносящих значительный ущерб животноводству, складывающийся из падежа и вынужденного убоя животных, снижения прироста массы, затрат на лечение и ликвидацию болезни.

Состав представлен инактивированными вирусами парагриппа-3, инфекционного ринотрахеита, вирусной диареи крупного рогатого скота и инактивированными бактериальными клетками *Mannheimia haemolytica* серотипа A:1, *Pasteurella multocida* серогруппы A и анатоксином *Mannheimia haemolytica* с добавлением масляного адъюванта.

Компонентный состав не имеет аналогов на рынке лекарственных средств и подобран с учетом циркулирующих в РФ вирусов и серовариантов бактерий с дополнительным включением аналейкотоксина.

Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у крупного рогатого скота через 14 сут после ревакцинации.

Специфическую профилактику в хозяйствах начинают с иммунизации всего поголовья крупного рогатого скота, включая телят с суточного возраста, телок случного возраста за 1,0–1,5 мес. до первой случки, глубокоостельных нетелей и коров за 45–50 сут и/или за 20–25 сут до отела. Животным всех возрастных групп вакцину вводят в одной прививной дозе (2,0 см³) внутримышечно в область средней трети шеи, соблюдая правила асептики. Ревакцинацию иммунизированных животных проводят через 6 мес.

Вакцина расфасована по 10 см³ (5 прививных доз), 50 см³ (25 прививных доз) или 100 см³ (50 прививных доз) в стеклянные или пластиковые флаконы. Вакцину хранят и транспортируют в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С. Срок годности – 18 мес.

Вакцина против инфекционного бронхита кур из штамма «ВНИИЗЖ793/В» живая сухая



Иммунобиологический лекарственный препарат представляет собой лиофилизат для приготовления суспензии для перорального, интраназального (окулярного) применения и спрей-метода. Препарат изготовлен из экстраэмбриональной жидкости СПФ-эмбрионов кур, инфицированных аттенуированным штаммом «ВНИИЗЖ793/В» вируса инфекционного бронхита кур.

Вакцина вызывает формирование иммунного ответа к возбудителю инфекционного бронхита кур через 14–21 сут после однократного применения, который сохраняется в течение 6 нед. Одна иммунизирующая доза вакцины содержит не менее

3,0 Ig ЭИД₅₀ вируса. Вакцинацию считают успешной, если не менее чем у 80% привитых птиц средний титр антител к вирусу инфекционного бронхита кур, регистрируемых методом иммуоферментного анализа (ИФА), в два и более раза превышает минимальное положительное значение.

Вакцину применяют начиная с суточного возраста спрей-методом или интраназальным (окулярным) методом; с 7-суточного возраста также методом выпаивания с питьевой водой. При содержании птицы более 6 нед. и высоком риске заражения вирусом инфекционного бронхита кур рекомендуется вакцинация каждые 6 нед.

Вакцина совместима с другими иммунобиологическими препаратами. Допускается совместное применение с живой вакциной против инфекционного бронхита кур, изготовленной из штамма «Н-120», а также применение в период яйцекладки.

Вакцина расфасована по 100 (2 см³), 500 (2 см³), 1000 (2 см³), 2000 (4 см³), 3000 (4 см³) и 4000 (4 см³) прививных доз в стеклянные флаконы. Вакцину хранят и транспортируют в защищенном от света месте при температуре не выше 8 °С.

Срок годности – 18 мес.

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ, НЕОБХОДИМО ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
FGBI "FEDERAL CENTRE FOR ANIMAL HEALTH" (FGBI "ARRIAH")

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЗЖ ПО ЯЩУРУ
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR FOOT AND MOUTH DISEASE

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЗЖ ПО ГРИППУ ПТИЦ
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR AVIAN INFLUENZA

РЕФЕРЕНТНАЯ ЛАБОРАТОРИЯ ВОЗЖ ПО БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА
WOAH REFERENCE LABORATORY FOR NEWCASTLE DISEASE

ЦЕНТР ВОЗЖ ПО СОТРУДНИЧЕСТВУ В ОБЛАСТИ
ДИАГНОСТИКИ И КОНТРОЛЯ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ
ЖИВОТНЫХ ДЛЯ СТРАН ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ,
ЦЕНТРАЛЬНОЙ АЗИИ И ЗАКАВКАЗЬЯ
WOAH COLLABORATING CENTRE FOR DIAGNOSIS AND CONTROL OF VIRAL
ANIMAL DISEASES IN EASTERN EUROPE, CENTRAL ASIA AND TRANSCAUCASIA

РЕФЕРЕНТНЫЙ ЦЕНТР ФАО ПО ЯЩУРУ
FAO REFERENCE CENTRE FOR FOOT-AND-MOUTH DISEASE

РЕФЕРЕНТНЫЙ ЦЕНТР ФАО ПО ЗООНОЗНЫМ
КОРОНАВИРУСАМ
FAO REFERENCE CENTRE FOR ZOOONOTIC CORONAVIRUSES

ВАКЦИНЫ ПРОИЗВОДСТВА ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

Вакцина против гриппа птиц (H5) инактивированная эмульсионная «АвиФлуВак»



В 2022 г. в ФГБУ «ВНИИЗЖ» была завершена разработка инактивированной эмульсионной вакцины против гриппа птиц (H5) «АвиФлуВак». Активным компонентом препарата является антиген низкопатогенного вируса гриппа А подтипа H5N1 штамма «Ямал», выделенного в 2021 г. на территории Ямало-Ненецкого автономного округа РФ.

Преимущество новой вакцины заключается в ее высокой иммуногенности, т. е. способности защищать птицу от заражения актуальными высокопатогенными вирусами гриппа А подтипа H5, и соответствии международным стандартам безопасности, т. к. в ее составе содержится антиген, изготовленный на основе низкопатогенного гриппа А подтипа H5.

Вакцина предназначена для профилактики гриппа А подтипа H5 у птиц, содержащихся на птицефабриках, в личных подсобных хозяйствах и зоопарках, расположенных в зонах высокого риска.

Вакцинации подлежит птица с 30-суточного возраста. Допускается вакцинировать птенцов с суточного возраста половиной прививной дозы (0,2 см³) с ревакцинацией через 30 сут.

Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у птиц к гриппу А подтипа H5 через 21–28 сут после однократного применения продолжительностью не менее 9 мес. Вакцинацию считают успешной, если не менее чем у 80% привитых птиц титр антител к вирусу гриппа птиц подтипа H5 в реакции торможения геагглютинации (РТГА) составляет не ниже 1:64 (6,0 log₂). Дальнейшие ревакцинации проводят по показаниям контроля напряженности поствакцинального иммунитета.

Вакцина расфасована по 50 см³ (100 доз), 200 см³ (400 доз) или 500 см³ (1000 доз) в стеклянные или пластиковые флаконы. Вакцину хранят и транспортируют в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С. *Срок годности – 18 мес.*

Вакцина против классической чумы свиней живая культуральная сухая



Новый иммунобиологический лекарственный препарат для профилактики классической чумы свиней производства ФГБУ «ВНИИЗЖ» был зарегистрирован в августе 2022 г.

Вакцина предназначена для профилактической иммунизации свиней как в благополучных зонах, так и в угрожаемых и неблагополучных по классической чуме хозяйствах.

Вирусвакцина вызывает формирование иммунитета к вирусу классической чумы свиней через 21 сут после однократного применения, который сохраняется в течение 12 мес. Одна прививная доза вакцины содержит не менее 100 ПД₅₀ вируса классической чумы свиней штамма «СК» (Синлак культуральный).

Вакцину вводят свиньям внутримышечно в область верхней трети шеи в объеме 2,0 см³. При плановой иммунизации животных прививают однократно: свиноматок – за 20–35 сут до осеменения (случки) один раз в год, хряков-произво-

дителей – один раз в год. Поросят, полученных от вакцинированных свиноматок, прививают в возрасте 40–45 сут, ревакцинируют в возрасте 80–100 сут, далее один раз в год. При вынужденной вакцинации иммунизируют всех клинически здоровых свиней, в том числе супоросных и лактирующих свиноматок, без учета предшествующей иммунизации против классической чумы свиней и других болезней. Вводят 10-кратную дозу вакцины (1000 ПД₅₀) в объеме 2,0 см³.

Препарат отвечает требованиям безопасности и эффективности, а соблюдение инструкции по его применению гарантирует сохранение положительной динамики в современных условиях развития свиноводства и значительное снижение экономических затрат.

Вакцина расфасована по 50 и 100 прививных доз в стеклянные флаконы. Вакцину хранят и транспортируют в защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С. *Срок годности – 18 мес.*

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ, НЕОБХОДИМО ОЗНАКОМИТЬСЯ С ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ