



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

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

VETERINARY SCIENCE TODAY

ИЮНЬ | JUNE

ТОМ 12 № 2 2023

SCIENTIFIC JOURNAL

БОЛЕЗНИ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Клинические признаки и патоморфологические
изменения при артрите-энцефалите коз стр. 126



Степень распространения
вируса лейкоза крупного
рогатого скота в Дагестане

стр. 111

Эффективность использования
данных, полученных с электронной
системы роботизированного
доения, при комплексной
диагностике мастита у коров

стр. 119

Инактивация вируса
ящура для изготовления
вакцин

стр. 164

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО ВЕТЕРИНАРНОМУ
И ФИТОСАНИТАРНОМУ НАДЗОРУ
(РОССЕЛЬХОЗНАДЗОР)
ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»

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

ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ

ЕЖЕКВАРТАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

ИЮНЬ ТОМ 12 № 2 2023

Основан в 2012 г.

VETERINARY SCIENCE TODAY

QUARTERLY SCIENTIFIC JOURNAL

JUNE VOLUME 12 No. 2 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: CHANDAN KUMAR BORUAH / Gettyimages

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, Институт экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока ФНЦА 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>

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

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

Махамат Нгуерабе Ямтити — 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: 9 июня 2023 года
Дата выхода в свет: 28 июня 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 (Rosselkhozadzor), Moscow, Russia, e-mail: j.melano@ya.ru

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

Cover photo: CHANDAN KUMAR BORUAH / Gettyimages

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, Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East SFSCA 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: June 09, 2023
Issued: June 28, 2023

Creative Commons
Attribution 4.0 License



16+

Содержание

ОБЗОРЫ | ОБЩИЕ ВОПРОСЫ

- 102** История становления в ФГБУ «ВНИИЗЖ» международного сотрудничества по ящуру
(к 65-летию института)
В. М. Захаров

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ КРС

- 111** Степень распространения вируса лейкоза крупного рогатого скота в Дагестане
Н. Р. Будулов, М. М. Микаилов, Ш. А. Гунашев, Э. А. Яникова, А. А. Халиков
- 119** Эффективность использования данных, полученных с электронной системы роботизированного доения, при комплексной диагностике мастита у коров
М. Н. Исакова, М. В. Ряпосова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ МРС

- 126** Клинические признаки и патоморфологические изменения при артрите-энцефалите коз
В. Ю. Коптев, Н. А. Шкиль, Н. Ю. Балыбина, И. Н. Пенькова

ОБЗОРЫ | ЭПИЗООТОЛОГИЯ

- 133** Проблема торовирусной инфекции животных (обзор литературы)
В. А. Мищенко, А. В. Мищенко, Т. Б. Никешина, Ю. В. Бровко, А. И. Кушлубаева

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ЭПИЗООТОЛОГИЯ

- 140** Распространение нетуберкулезных микобактерий в объектах эпизоотологического надзора в Республике Дагестан
М. О. Баратов

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БОЛЕЗНИ ПТИЦ

- 147** Молекулярная идентификация вируса ньюкаслской болезни, выделенного в домашнем птицеводстве Подмоскovie летом 2022 года
А. А. Трещалина, А. А. Ртищев, Е. Ю. Шустова, А. В. Белякова, А. С. Гамбарян, Е. Ю. Боравлева

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БЕШЕНСТВО ЖИВОТНЫХ

- 154** Динамика сезонной заболеваемости животных бешенством в Азербайджане
Ч. В. Алиева, Ш. К. Зейналова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | БИОТЕХНОЛОГИЯ

- 158** Разработка способа глубинного культивирования вакцинного штамма *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides*
О. Г. Лаптева
- 164** Инактивация вируса ящура для изготовления вакцин
Д. В. Михалишин, В. В. Михалишин, Ы. М. Гочмурадов, Ю. С. Елькина

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ | ВЕТЕРИНАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

- 171** Отработка режима низкотемпературной консервации штаммов *Bacillus anthracis*
А. П. Родионов, Е. А. Артемьева, Л. А. Мельникова, Д. М. Сахибуллина
- 178** Свойства изолятов *Actinobacillus pleuropneumoniae*
В. А. Евграфова, О. В. Прунтова, Н. Б. Шадрова, А. М. Тимина

Contents

REVIEWS | GENERAL ISSUES

- 102** History of the FGBI "ARRIAH" international cooperation on foot-and-mouth disease
(on occasion of the 65th anniversary of the Institute)
V. M. Zakharov

ORIGINAL ARTICLES | BOVINE DISEASES

- 111** Bovine leukemia virus occurrence in Dagestan
N. R. Budulov, M. M. Mikailov, Sh. A. Gunashev, E. A. Yanikova, A. A. Halikov
- 119** Efficiency of the data generated by the robotic milking system
for comprehensive diagnosis of mastitis in cows
M. N. Isakova, M. V. Ryaposova

ORIGINAL ARTICLES | SMALL RUMINANTS DISEASES

- 126** Clinical signs of caprine arthritis-encephalitis and disease-related pathomorphological changes
V. Yu. Koptev, N. A. Shkil, N. Yu. Balybina, I. N. Penkova

REVIEWS | EPIZOOTOLOGY

- 133** Torovirus infection in animals: a review
V. A. Mischenko, A. V. Mischenko, T. B. Nikeshina, Yu. V. Brovko, A. I. Kushlubaeva

ORIGINAL ARTICLES | EPIZOOTOLOGY

- 140** Nontuberculous mycobacterium occurrence in biological material and environmental samples
covered by epidemiological surveillance in the Republic of Dagestan
M. O. Baratov

ORIGINAL ARTICLES | AVIAN DISEASES

- 147** Molecular identification of Newcastle disease virus isolated on the poultry farm
of the Moscow Oblast in summer of 2022
A. A. Treshchalina, A. A. Rtishchev, E. Yu. Shustova, A. V. Belyakova, A. S. Gambaryan, E. Yu. Boravleva

ORIGINAL ARTICLES | ANIMAL RABIES

- 154** Dynamics of seasonal rabies incidence in animals in Azerbaijan
Ch. V. Aliyeva, Sh. K. Zeynalova

ORIGINAL ARTICLES | BIOTECHNOLOGY

- 158** Development of submerged cultivation method for vaccine *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* strain
O. G. Lapteva
- 164** Inactivation of foot and mouth disease virus for vaccine production
D. V. Mikhailishin, V. V. Mikhailishin, Y. M. Gochmuradov, Yu. S. El'kina

ORIGINAL ARTICLES | VETERINARY MICROBIOLOGY

- 171** Optimizing a low-temperature preservation technique for *Bacillus anthracis* strains
A. P. Rodionov, E. A. Artemeva, L. A. Melnikova, D. M. Sahibullina
- 178** Properties of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates
V. A. Evgrafova, O. V. Pruntova, N. B. Shadrova, A. M. Timina



История становления в ФГБУ «ВНИИЗЖ» международного сотрудничества по ящуру (к 65-летию института)

В. М. Захаров

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

РЕЗЮМЕ

Материалы статьи освещают многолетнюю историю осуществления международного сотрудничества по ящуру в ФГБУ «ВНИИЗЖ» начиная с 1964 г., когда учреждение еще носило название «Всесоюзный научно-исследовательский ящурный институт». Научная тематика по ящуру была главенствующей для учреждения, при институте был создан Координационный совет, в состав которого входили специалисты ветеринарных служб, исследовательских учреждений и учебных институтов из всех союзных республик СССР, прорабатывалась единая научная программа, направленная на разработку и внедрение эффективных средств и методов борьбы с ящуром. Следующий этап международного сотрудничества связан с функционированием Совета экономической взаимопомощи (СЭВ), когда институт с 1977 г. координировал исследования по 11 темам проблемы ящура стран – членов СЭВ, проводил совещания по тематике и заседания Совета уполномоченных. С созданием Содружества Независимых Государств (СНГ) учреждением в 2004 г. была разработана долгосрочная «Программа совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром в государствах Содружества», которая затем неоднократно изменялась и продлялась с появлением новых приоритетных целей, при этом координирующая роль отводилась институту. В настоящее время принят «Комплекс совместных мер государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром на период до 2025 года», а ФГБУ «ВНИИЗЖ» выполняет также функции базовой организации государств – участников СНГ по повышению квалификации и переподготовке кадров в области диагностики и контроля болезней животных. Существенную роль в международном сотрудничестве института по ящуру на современном этапе играет исполнение функций Референтной лаборатории ВОЗЖ по ящуру, а также Референтного центра ФАО по ящуру.

Ключевые слова: обзор, ящур, международное сотрудничество, ФГБУ «ВНИИЗЖ»

Для цитирования: Захаров В. М. История становления в ФГБУ «ВНИИЗЖ» международного сотрудничества по ящуру (к 65-летию института). *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 102–110. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-102-110.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Захаров Валерий Михайлович, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: zaharov@arriah.ru.

History of the FGBI “ARRIAH” international cooperation on foot-and-mouth disease (on occasion of the 65th anniversary of the Institute)

V. M. Zakharov

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

SUMMARY

The paper covers the long history of the FGBI “ARRIAH” international cooperation on foot-and-mouth disease, starting from 1964 when its name was the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute. Foot-and-mouth disease was the main focus of the Institute's research activities. Under of the auspices of the Institute, a Coordination Board was established. It consisted of the specialists of the veterinary services, research and educational institutions from all the republics of the USSR. A common research programme aimed at the development and implementation of effective tools and methods for FMD control was worked out. The next stage of international cooperation was related to the functioning of the Council for Mutual Economic Assistance (CMEA or COMECON). Starting from 1977, the Institute coordinated the CMEA member countries' research activities on 11 topics of the FMD issue, held meetings on the subject, as well as meetings of the Board of Commissioners. After formation of the Commonwealth of Independent States (CIS), the Institute developed the long-term “Programme of joint activities of the CIS member states for the prevention and control of foot-and-mouth disease in the CIS member states” (2004). Later on, the Programme was repeatedly altered and extended to address new priorities, with the Institute undertaking the coordinating role. The “Set of joint measures of the CIS member states for the prevention and control of foot-and-mouth disease for the period up to 2025” has now been adopted, and the FGBI “ARRIAH” also performs the functions of the base organization of the CIS member states for the advanced training and retraining in animal disease diagnosis and control. At present, much of the FGBI “ARRIAH” international cooperation on FMD takes place through its acting as the WOAHP Reference Laboratory for Foot-and-Mouth Disease and the FAO Reference Centre for Foot-and-Mouth Disease.

Keywords: review, foot-and-mouth disease, international cooperation, FGBI “ARRIAH”

For citation: Zakharov V. M. History of the FGBI “ARRIAH” international cooperation on foot-and-mouth disease (on occasion of the 65th anniversary of the Institute). *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 102–110. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-102-110.

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

For correspondence: Valery M. Zakharov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: zaharov@arriah.ru.

Анализ многовекового опыта борьбы с ящуром в мире дал полное основание Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО) и Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ, сейчас ВОЗЖ) при разработке Глобальной стратегии по борьбе с ящуром (2012 г.) сформулировать данную проблему как одну из классических мировых проблем, пагубно воздействующих на эффективность животноводства, препятствующих свободному и безопасному перемещению животноводческой продукции, требующих огромных и постоянных государственных и частных инвестиций в защиту здоровья животных в энзоотичных и свободных регионах. То есть практически все страны, независимо от того, являются они неблагополучными или свободными от ящура, вынуждены нести расходы, связанные или с прямыми потерями от болезни, или с затратами на превентивные меры [1].

Это же положение четко сформулировано и в заключительных строках монографии «Ящур» выдающегося немецкого ученого Х. Ререра: «...Чтобы достичь поставленной цели – полной ликвидации эпизоотий (ящура) ... при повсеместно растущих и оживляющихся международных связях, эффективная борьба с эпизоотией на земном шаре должна стать общим делом» [2].

Именно в целях разработки научно обоснованной системы мер борьбы с ящуром при едином методическом руководстве и единой координации проводимых исследований и было принято Постановление ЦК КПСС и Совета Министров СССР от 7 августа 1958 г. № 909-426, обязывающее МСХ СССР создать в 1958–1960 гг. на базе существующих научных и учебных учреждений и совхозов Всесоюзный ящурный институт с экспериментальной лабораторией по испытанию биопрепаратов против особо опасных инфекций на территории РСФСР [3–8].

Ко времени создания института и началу его функционирования (1962 г.) число неблагополучных пунктов по ящуру в стране ежегодно составляло сотни и тысячи (ящур типа А₁ в 1951–1954 гг. и типа А₂₂ в 1964–1968 гг.). В связи с актуальностью проблемы ящура в стране до создания института различными аспектами болезни занималось более 30 научных учреждений страны [9].

Первое координационное совещание по данному вопросу с участием представителей 22 научно-исследовательских и учебных учреждений, практической ветеринарной службы состоялось во ВНИИИ (новое название института в соответствии с приказом МСХ СССР от 25 ноября 1960 г. № 225) в июне 1964 г. На совещании были рассмотрены итоги НИР за 1963 г., планы НИР на 1964–1965 гг. Работа по координации научно-исследовательской тематики по проблеме ящура в стране была возложена на ВНИИИ.

В 1966 г. планом НИР по МСХ СССР была принята для разработки тема «Искоренение ящура в стране», голов-

ным учреждением по которой с января 1966 г. был утвержден ВНИИИ. В решении этой проблемы принимали участие:

- 16 научно-исследовательских институтов: ВНИИИ, ВГНКИ, ВНИИВВиМ, ВИЭВ, ВНИИВС, УНИИЭВ, СибНИВИ, КазахНИВИ, АзНИВИ, БелНИВИ, КиргНИИЖВ, ТаджНИВИ, УзНИВИ, КВИ, АрмНИИЖВ, ГрузЗВУИИ;

- 8 научно-исследовательских ветеринарных станций: Новосибирская, Алтайская, Куйбышевская, Курская, Воронежская, Горьковская, Иркутская, Саратовская;

- с 1970 г. присоединились Закавказский (г. Ереван, Армения) и Среднеазиатский (г. Душанбе, Таджикистан) филиалы ВНИИИ.

При ВНИИИ был создан Координационный совет, в состав которого входили начальники ветслужб союзных республик, специалисты союзных ведомств, научные сотрудники исследовательских и учебных институтов, предприятий, занимавшихся проблемой ящура. Заседания совета с 1966 г. проводились ежегодно, возглавлял его директор ВНИИИ профессор В. П. Онуфриев.

Прорабатывалась единая научная программа «Разработка и внедрение высокоэффективных средств и научно обоснованной системы мер по борьбе с ящуром сельскохозяйственных животных с учетом зональных систем ведения животноводства».

Заседания Координационного совета имели очевидную научную значимость и играли немаловажную роль в познавательном плане, особенно для молодых кадров ВНИИИ, так как давали возможность непосредственно соприкоснуться с практическими проблемами, познакомиться с ведущими учеными страны – «ящурниками» (вопросы краевой эпизоотологии, разработки ВИЭВ и ВГНКИ по противоящурным вакцинам, работа противоэпизоотической экспедиции ВГНКИ во главе с И. А. Ростовцевой и др.). Но были, конечно, и курьезные моменты, к которым можно отнести: исследование по безафтозной (кишечной) форме ящура и превращению в холодильнике вирусов одних типов в другие; возможность типирования вируса на глаз; печальный опыт разработки живых противоящурных вакцин с использованием холодных мутантов вируса и аттенуированных штаммов.

Последнее, как оказалось, заседание Координационного совета состоялось в апреле 1991 г., на котором были обобщены итоги и констатировано значительное улучшение ситуации по ящуру в СССР, что явилось закономерным следствием гигантских масштабов проведенной работы.

Следующий этап становления международного сотрудничества по ящуру в институте связан со странами – членами Совета экономической взаимопомощи (СЭВ). 14 сентября 1974 г. между министерствами

сельского хозяйства НРБ, ВНР, ГДР, Республики Куба, МНР, ПНР, СРР, СССР и ЧССР было заключено «Соглашение об организации центров референции для наиболее важных штаммов вирусов, бактерий и фагов, их соответствующих антигенов и контрольных сывороток, а также некоторых лабораторных химикатов», а в декабре того же года – «Межправительственное соглашение о координации НИР и создании центров референции по актуальным направлениям сельскохозяйственной науки», в рамках которого было выделено «Соглашение о научно-техническом сотрудничестве стран – членов СЭВ по проблемам профилактики и эффективной борьбы с ящуrom, а также по созданию высокоэффективных противоящурных вакцин». Функции координационного центра были возложены на ВГНКИ, а с сентября 1977 г. – на ВНИИ, где в 1978 г. было создано спецподразделение «Музей штаммов с рабочим аппаратом координационного центра» (А. И. Гриценко, И. В. Зубов, В. М. Захаров, Л. А. Глобенко).

Первая программа сотрудничества на 1976–1980 гг. была принята в декабре 1975 г. на первом заседании Совета уполномоченных (СССР все годы представлял замначальника ГУВ МСХ СССР П. П. Рахманин). Программа включала 11 тем, исполнителями которых были 22 учреждения 9 стран – членов СЭВ. Соглашение предусматривало координацию работ, проводимых национальными организациями по согласованной тематике, по совместным рабочим планам с учетом взаимной заинтересованности сторон. В ходе координации осуществлялся обмен информацией, проходили взаимные консультации, стажировки.

Результаты сотрудничества обсуждались на ежегодных заседаниях Совета уполномоченных (рис. 1). Координационный центр каждый год проводил совещания по отдельным темам проблемы ящура, организовывал проведение симпозиумов и семинаров, публикацию научных материалов [10].

На симпозиумах подводились итоги сотрудничества, вырабатывались основные направления исследований на предстоящее пятилетие. Так, на 1986–1990 гг. была сформирована «Детализированная программа», которая на заседании Совета уполномоченных в Монголии в 1988 г. трансформировалась в целевой проект «Создание и кооперированное производство ветеринарных препаратов для профилактики и борьбы с ящуrom» (головная организация – ВНИИ). Планировалось проведение исследований по молекулярной биологии и генетике вируса ящура, разработке технологии и производству диагностикумов, в том числе на основе моноклональных антител, использование в производстве вакцин новых адъювантов и инактивантов, создание резервного банка вакцин для стран – членов СЭВ на базе ВНИИ, в том числе сухих с длительным сроком хранения.

По итогам совместных исследований были разработаны стандарты СЭВ на методы и средства диагностики ящура, «Требования к инактивированным противоящурным вакцинам», «Инструкция по борьбе с ящуrom в свиноводческих комплексах», «Рекомендации по профилактике и борьбе с ящуrom в крупных животноводческих комплексах», «Проект мероприятий по недопущению заноса экзотических типов ящура».

К основным позитивным итогам сотрудничества стран – членов СЭВ по ящуру можно отнести:

- обеспечение устойчивого благополучия большинства стран – членов СЭВ по ящуру;
- приобретение ценного опыта международного сотрудничества по ящуру с иностранными партнерами, в том числе на двусторонней межгосударственной основе;
- детальное ознакомление научных сотрудников ВНИИ с разработкой и организацией производства диагностических и вакцинных противоящурных препаратов на базе ведущих европейских центров по ящуру (прежде всего, в СССР, Венгрии, Румынии);



Рис. 1. Участники заседания Совета уполномоченных стран – членов СЭВ по ящуру, г. Москва, 1975 г. (в центре первого ряда – В. П. Онуфриев)

Fig. 1. Participants of the meeting of the Board of Commissioners of the CMEA member countries on foot-and-mouth disease, Moscow, 1975 (V. P. Onufriyev is in the centre of the first row)

– составление значительной коллекции производственных и эпизоотических штаммов вируса ящура, которая до сих пор составляет золотой фонд музея штаммов микроорганизмов института.

Научные сотрудники ВНИИИ в процессе проводимых рабочих совещаний по темам сотрудничества, симпозиумов, заседаний Совета уполномоченных, которые проходили ежегодно поочередно в каждой сотрудничающей стране, могли наладить личные и научные контакты с иностранными специалистами, значительно расширить кругозор.

Но главный итог заключается в том, что институтом был убедительно подтвержден высокий научный уровень проводимых на его базе исследований, показана способность осуществлять четкую координацию комплексных работ по проблеме ящура как на национальном, так и на международном уровне, приобретен соответствующий организационный опыт, получены международное признание и авторитет, которые в последующем окажутся важнейшими факторами развития учреждения.

Однако с распадом СССР в 1991 г. международное сотрудничество в этом направлении прекратилось.

С образованием в 1991 г. Содружества Независимых Государств (СНГ) и прекращением функционирования общесоюзных ветеринарных структур СССР, обеспечивавших централизованное проведение единой политики в организации противозооотических мероприятий, эпизоотическая ситуация на территории образовавшихся суверенных государств ухудшилась, в связи с чем встал вопрос о необходимости координации противозооотических мероприятий на постсоветском пространстве.

Главами правительств 10 стран СНГ (Армении, Беларуси, Казахстана, Кыргызстана, Молдовы, России, Таджикистана, Туркменистана, Узбекистана и Украины) 12 марта 1993 г. в Москве было подписано «Соглашение о сотрудничестве в области ветеринарии»¹, послужившее основой для начала совместных работ по борьбе и профилактике особо опасных болезней животных. На основе этого соглашения в том же 1993 г. был создан Межправительственный совет по сотрудничеству в области ветеринарии (МССОВ), на заседаниях которого (октябрь 1996 г., г. Тбилиси; октябрь 1997 г., г. Ереван; апрель 1998 г., г. Алма-Ата) институт, переименованный в 1992 г. во Всероссийский научно-исследовательский институт защиты животных (ВНИИЗЖ), неоднократно ставил вопрос о необходимости координации противоящурных мероприятий в странах СНГ [11–14].

По поручению МССОВ ФГУ «ВНИИЗЖ» при участии ветеринарных служб стран СНГ разработало «Программу совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром в государствах Содружества»² на период до 2010 г., которая 16 апреля 2004 г. была утверждена решением Совета глав правительств СНГ (г. Чолпон-Ата, Кыргызская Республика).

Основной целью программы являлось обеспечение благополучия по ящуру каждого государства Содружества и СНГ в целом. Ее реализация стала практическим



Рис. 2. Руководители семинара Н. Белев (в центре), директор ВНИИЗЖ В. А. Грубый (справа от него)

Fig. 2. Leaders of the seminar: N. Belev (in the centre), Director of the FGBI "ARRIAH" V. A. Gruby (to his right)

мероприятием по профилактике и борьбе с ящуром животных, что позволяло в случае возникновения вспышек минимизировать экономический ущерб. В большинстве государств Содружества на основе этой программы были разработаны и приняты национальные программы, правила (инструкции) по профилактике и борьбе с ящуром. Ход выполнения программы периодически заслушивался на заседаниях МССОВ.

Основные противоящурные мероприятия, проводимые в РФ в 2007–2010 гг., включали:

- командировки сотрудников ФГУ «ВНИИЗЖ», ФГУ «Центр ветеринарии», Россельхознадзора, Департамента ветеринарии МСХ РФ в различные регионы РФ и другие страны с целью эпизоотологического мониторинга и участия в противоящурных мероприятиях;
- изготовление в ФГУ «ВНИИЗЖ» различных диагностикумов и наборов для постановки реакции связывания комплемента, иммуноферментного анализа и др., поставка их в регионы РФ, Азербайджан, Армению, Казахстан, Киргизию, Узбекистан, Беларусь, Монголию;
- исследования в ФГУ «ВНИИЗЖ» патматериалов и сывороток крови животных из РФ, Казахстана, Киргизии, Таджикистана, Монголии;
- стажировки в ФГУ «ВНИИЗЖ» ветспециалистов из Казахстана, Киргизии, Таджикистана, Польши;
- проведение семинаров, курсов повышения квалификации по теме «Диагностика, профилактика и меры борьбы с ящуром животных в современных условиях» (РФ, Беларусь, Казахстан, Киргизия, Молдова) [15–24].

В качестве реализации одного из пунктов этой программы 16–18 июня 2011 г. в соответствии с решением МССОВ от 27 октября 2010 г. были проведены совместные учения ветеринарных служб Республики Беларусь, Российской Федерации и Украины по отработке мероприятий совместных действий срочного реагирования на случай возникновения ящура, в которых также участвовали представители ветеринарных служб Молдовы и Таджикистана. Местом проведения являлись Гомельская (Беларусь), Брянская (РФ), Черниговская (Украина) области, где профилактическая вакцинация животных против ящура не проводилась.

На базе ФГБУ «ВНИИЗЖ» 15–17 июня 2011 г. под руководством президента Региональной комиссии МЭБ по Европе профессора Н. Белева проведен семинар, целью которого было ознакомление с принципами функционирования системы WAHIS – World Animal Health Information System (рис. 2). В его работе приняли

¹ Соглашение о сотрудничестве в области ветеринарии. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/ru/fsvps/laws/203.html>.

² Программа совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром в государствах Содружества. Режим доступа: <https://e-ecolog.ru/docs/4ba3bDCZMR2FMLUJRmu52/77>.

участие представители (национальные координаторы) из 23 стран Европы, Центральной Азии и Закавказья. Проведение данного семинара было обусловлено введением новых требований к предоставлению информации в МЭБ об эпизоотической ситуации в странах.

После выполнения программы было признано, что многие ее мероприятия остаются актуальными и на последующие годы. С учетом этого МССОВ было рекомендовано ФГБУ «ВНИИЗЖ» подготовить «Комплекс совместных мер государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром на период до 2020 года». На заседании МССОВ, которое проходило в г. Владимире в ФГБУ «ВНИИЗЖ» 5 апреля 2013 г., документ был одобрен. После его детального обсуждения на заседании Экономического совета СНГ 13 декабря 2013 г. Комплекс совместных мер был утвержден решением Совета глав правительств СНГ 30 мая 2014 г. в Минске. Координатором работ был определен ФГБУ «ВНИИЗЖ».

В Комплексе совместных мер была детально проанализирована эпизоотическая ситуация по ящуру в государствах – участниках СНГ и других странах мира, спрогнозирован риск заноса, возникновения и распространения ящура в государствах – участниках СНГ, определены регионы высокой степени риска заноса и распространения ящура, намечены мероприятия по профилактике и борьбе с ящуром в государствах – участниках, предложены меры по повышению квалификации ветеринарных кадров, по координации совместных действий ветеринарных служб государств – участников СНГ и международных организаций (МЭБ, ФАО, ЕС) по контролю за ящуром животных, дана оценка ожидаемой эффективности от реализации намеченных мероприятий.

Важным моментом в сотрудничестве стран СНГ явилось принятое по итогам заседания Экономического совета СНГ (21 июня 2019 г., г. Минск) решение о наделении ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» статусом базовой организации государств – участников СНГ по повышению квалификации и переподготовке кадров в области диагностики и контроля болезней животных.

В качестве основных задач базовой организации были определены:

- повышение квалификации и профессиональная переподготовка специалистов в области диагностики и контроля болезней животных;
- изучение, обобщение, распространение опыта по подготовке кадров в области диагностики и контроля болезней животных;
- содействие распространению современных методов преподавания в сфере диагностики и контроля болезней животных;
- координация разработки и реализации совместных инновационных образовательных и научно-исследовательских программ с соответствующими научно-исследовательскими учреждениями государств – участников СНГ;
- организация сравнительного и прикладного изучения проблем подготовки кадров в области диагностики и контроля болезней животных.

Придание статуса базовой организации ФГБУ «ВНИИЗЖ» способствовало развитию профессиональных компетенций специалистов в области ветеринарии и обеспечению эпизоотического и ветеринарного благополучия на территориях государств – участников СНГ.

На заседании МССОВ 11 октября 2019 г. в г. Минске результаты выполнения программных мероприятий были одобрены и принято решение о продлении срока действия перечня мероприятий Комплекса совместных мер до 2025 г., а на ФГБУ «ВНИИЗЖ» возложена задача представить соответствующий проект с учетом предложений государств.

Такой проект был одобрен на заседании МССОВ и утвержден решением Совета глав правительств стран СНГ 28 мая 2021 г. (г. Минск). При этом было констатировано, что достигнутые в предыдущие годы результаты позволяют последовательно продолжить работу по достижению эпизоотического благополучия и искоренению ящура на территориях государств – участников СНГ. Реализация «Комплекса совместных мер государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром на период до 2025 года» обеспечит стабильность эпизоотической ситуации в государствах – участниках СНГ, эффективность реализуемых ветеринарно-санитарных мер и благополучия по ящуру территорий государств – участников СНГ, развитие животноводческой отрасли и беспрепятственной международной торговли.

В целом Комплекс совместных мер рассчитан на постепенное расширение и углубление сотрудничества ветеринарных служб государств – участников СНГ в осуществлении совместных действий по профилактике и ликвидации ящура. В течение всего периода последовательной реализации данного комплекса следует пройти следующие основные этапы:

- совершенствование базы по современному нормативно-правовому и информационно-коммуникационному обеспечению мероприятий;
- организация выполнения принятых нормативных правовых документов и взаимного информирования об изменениях эпизоотической ситуации по ящуру в каждом государстве – участнике СНГ;
- осуществление совместных мероприятий по мониторингу, профилактике и ликвидации ящура в государствах – участниках СНГ.

Отдельным видом сотрудничества стран СНГ по ящуру является взаимодействие государств – членов Евразийского экономического союза (ЕАЭС) при профилактике, диагностике, локализации и ликвидации очагов особо опасных, карантинных и зоонозных болезней животных. В число стран союза входят Армения, Беларусь, Казахстан, Киргизия, Россия, наблюдателями являются Молдавия, Узбекистан, Куба. В рамках договора о ЕАЭС, который вступил в силу с 1 января 2015 г., обеспечивается свобода движения товаров, а также услуг, капитала и рабочей силы, проведение скоординированной, согласованной или единой политики в отраслях экономики. Разработан проект «Порядок применения общих принципов и правил профилактики, локализации и ликвидации очагов ящура» в государствах – членах Евразийского экономического союза (2017–2022 гг.).

Еще в начальный период после распада СССР кроме сотрудничества со странами СНГ встал вопрос и о налаживании более интенсивного взаимодействия по ящуру с европейскими странами, развитии тесного международного сотрудничества с основными европейскими институтами, занимающимися проблемой ящура, в рамках Европейской комиссии по борьбе с ящуром ФАО, а также под эгидой МЭБ.

Значимым событием в этом плане явилось проведение в октябре 1991 г. во Владимире и Суздале международной научной конференции «К новой стратегии борьбы с ящуром» с приглашением ведущих европейских специалистов по проблеме ящура, на которой широкомасштабно были продемонстрированы достижения ученых ВНИИИ по совершенствованию противоящурных препаратов, позволяющие говорить о новой стратегии борьбы с заболеванием [25]. Конференция способствовала налаживанию научных контактов со специалистами из Великобритании, Франции, Италии, Дании, что явилось прологом придания ВНИИИ международного статуса.

На третьем заседании МССОВ (апрель 1993 г., г. Краснодар) было принято решение о целесообразности создания Центра референции МЭБ по ящуру для стран Восточной Европы, в связи с чем в Международный комитет МЭБ было направлено соответствующее ходатайство о создании такого центра на базе ВНИИЗЖ.

Учитывая огромный вклад института в разработку и осуществление комплекса мероприятий по ликвидации ящура в стране и странах – членах СЭВ, МЭБ на 63-й Генеральной сессии (1995 г.) отметило заслуги института как научно-методического центра и присвоило ему статус «Региональная референтная лаборатория МЭБ по ящуру для стран Восточной Европы, Центральной Азии и Закавказья».

В августе 2013 г. Служба охраны здоровья животных ФАО назначила ВНИИЗЖ Референтным центром ФАО по ящуру для Центральной Азии и Западной Европы, а с ноября 2020 г. название статуса было изменено на более широкое – «Референтный центр ФАО по ящуру». Ранее такой двойной статус (МЭБ и ФАО) по ящуру имели только четыре исследовательских центра: Plum Island Animal Disease Center (США), Pirbright Institute (Великобритания), University of Brescia (Италия) и Onderstepoort Veterinary Institute (ЮАР).

Экспертами МЭБ по ящуру в разные годы были доктор ветеринарных наук, профессор Ж. А. Шажко (1995 г.), кандидат ветеринарных наук С. А. Дудников (1996–1997 гг.), доктор ветеринарных наук, профессор В. М. Захаров (с 1998 г. по настоящее время).

В качестве референтных центров МЭБ/ФАО по ящуру институт осуществляет следующие функции:

- экспертиза и стандартизация методов исследований, относящихся к ящуру;
- хранение и распределение стандартных биологических препаратов и других реактивов, используемых для диагностики и контроля за ящуром;
- разработка новых методов диагностики и контроля за заболеванием;
- сбор, обработка, анализ и распространение информации по эпизоотологии болезней;
- предоставление в распоряжение МЭБ/ФАО экспертов-консультантов;
- научная и техническая подготовка персонала из стран – членов МЭБ/ФАО;
- организация от имени МЭБ/ФАО научных совещаний;
- координация научных и технических исследований в сотрудничестве с другими лабораториями (организациями);
- публикация и распространение любой информации о ящуре, которая может быть полезной для стран, входящих в МЭБ/ФАО.

Ежегодно о деятельности региональных референтных лабораторий и центров по сотрудничеству МЭБ/ФАО представляются отчеты, в которых указываются основные результаты деятельности, число проведенных обучающих семинаров, конференций, а также публикации сотрудников за истекший год.

В качестве примера исполнения этих функций можно привести сотрудничество в 2006–2007 гг. по международному соглашению Altandi 1 и 2 с Veterinary and Agrochemical Research Centre (Бельгия) по изучению коррелятивной зависимости между титром антител в крови вакцинированных против ящура животных и их устойчивостью к контрольному заражению вирусом ящура типов О, А и Азия-1. По результатам проведенных работ опубликован ряд статей в зарубежных журналах, выявленные оценочные критерии и в настоящее время используются в Европейской фармакопее [26–28].

По соглашению между ФАО и ФГБУ «ВНИИЗЖ» (договор РО № 303836 – EuFMD от 19 июня 2013 г., период действия – до 31 декабря 2013 г.) институту были выделены финансовые средства для проведения экспериментов по изучению клинических признаков ящура у диких кабанов, определению длительности вирусоносительства у переболевших животных, валидации методов неинвазивного отбора проб для обнаружения генома вируса ящура.

С 2002 по 2013 г. большой объем исследований осуществлялся совместно с научными учреждениями США по линии межправительственной организации «Международный научно-технический центр» (МНТЦ). Направлены они были на изучение выделяемых изолятов вируса ящура и ряда других возбудителей вирусных болезней животных. Опыт проведения совместных исследований, посещение нашими сотрудниками передовых зарубежных лабораторий, совместные публикации полученных результатов способствовали повышению квалификации специалистов ВНИИЗЖ.

В связи с прекращением деятельности МНТЦ в апреле 2015 г. был подписан меморандум о передаче ФГБУ «ВНИИЗЖ» в качестве безвозмездной технической помощи оборудования, полученного в пользование для проведения исследований по всем проектам, что позволило укрепить материально-техническую базу учреждения для проведения научно-исследовательских работ на современном методическом уровне.

Для РФ с учетом периодического неблагополучия по ящуру в Сибирском и Дальневосточном регионах очень важным в эпизоотологическом плане являлось сотрудничество с Китаем и Монголией в рамках Программы технического сотрудничества ФАО «Трансграничная торговля и снижение риска трансграничных болезней животных» (с особым вниманием к ящуру).

Интенсивное сотрудничество с Монголией по контролю ящура началось еще в 2011 г., когда по распоряжению Правительства РФ от 12 августа 2011 г. № 1427-рп стране была оказана гуманитарная помощь в виде поставки 37 млн доз противоящурной вакцины. По результатам проведенного эпизоотологического анализа проявления ящура в Монголии за длительный период осуществлено зонирование территории страны по степени риска заноса инфекции, закрепленное постановлением Правительства Монголии от 7 августа 2011 г. № 247. В стране была принята «Программа оздоровления сельскохозяйственных животных



Рис. 3. Памятная медаль Европейской комиссии по борьбе с ящуром ФАО

Fig. 3. Commemorative Medal of the FAO European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease

и повышения оперативности ветеринарной службы Монголии», предусматривавшая проведение мероприятий по ящуру в три этапа: первый – 2012 г., второй – 2017–2018 гг., третий – 2019–2021 гг. Мероприятия включали поставку противоящурных вакцин на договорной основе и проведение мониторинговых исследований по контролю иммунного фона [29].

В 2019 г. от Министерства продовольствия, сельского хозяйства и легкой промышленности Монголии в адрес МСХ РФ поступило предложение о мероприятиях по третьему этапу программы на 2019–2021 гг., который предполагал выполнение следующих пунктов:

- поставка противоящурных вакцин;
- проведение исследований сывороток крови животных на предмет возможной циркуляции вируса ящура;
- оказание консультативной помощи в организации работы биокомбината «Сангино» (Монголия);
- обучение в аспирантуре при ФГБУ «ВНИИЗЖ» специалистов биокомбината по ящуру;
- краткосрочные обучающие семинары для монгольских специалистов;
- периодические встречи монгольских и российских специалистов.

На встрече руководителей ветеринарных служб стран с участием представителей ФАО (г. Владимир, 23–25 января 2013 г.) было подписано «Соглашение о намерениях сотрудничества в области ветеринарии и карантина», предусматривавшее:

- создание механизма обмена информацией о ветеринарно-санитарной ситуации;
- взаимодействие в области профилактики и контроля;
- проведение совместных исследований в области совершенствования методов диагностики болезней животных.

С 11 по 13 октября 2016 г. в ФГБУ «ВНИИЗЖ» состоялось 6-е Заседание по трансграничной торговле и снижению риска трансграничных болезней животных между Китаем, Монголией и Россией под эгидой ФАО. На заседании присутствовали высокопоставленные члены ветеринарных ведомств КНР, Монголии и России, а также высокопрофессиональные команды из каждой страны, включающие лабораторных экспертов, эпизоотологов, технических экспертов и представителей аймаков/провинций. Данное заседание было сконцентрировано на усилении сотрудничества и обмена информацией между тремя странами-участниками: КНР, Монголией

и Россией. В ходе заседания внимание акцентировали на пяти трансграничных болезнях: ящур, африканская чума свиней, высокопатогенный грипп птиц, чума мелких жвачных животных и заразный узелковый дерматит крупного рогатого скота.

Приведенная выше информация касается становления лишь основных направлений международного сотрудничества по ящуру в институте, оно интенсивно осуществляется и в настоящее время как на многосторонней основе, так и по конкретным двусторонним контактам, в рамках которых осуществляли внедрение в практику научных разработок института по проблеме ящура, а также реализацию диагностических и вакцинных противоящурных препаратов.

Активная международная деятельность института по ящуру неоднократно получала положительную оценку со стороны сельскохозяйственных органов страны, Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ/ВОЗЖ), Ветеринарной службы ФАО, Межправительственного совета по сотрудничеству в области ветеринарии государств – участников СНГ. Так, по результатам прошедшей в октябре 2017 г. в Москве 19-й Российской агропромышленной выставки «Золотая осень» учреждение было удостоено золотой медали за разработку и реализацию международного проекта «Комплекс совместных мер государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром до 2020 года». Но особо значимой наградой является вручение институту в ноябре 2004 г. в числе пяти ведущих учреждений мира по ящуру памятной медали, посвященной 50-летию Европейской комиссии по борьбе с ящуром ФАО, с формулировкой «за выдающийся вклад в дело борьбы с ящуром в Европе через руководящую роль в технических областях и за оказание услуг, которые помогли бороться с болезнью в регионах мира, где ситуация по ящуру представляла большую угрозу для европейских стран» (рис. 3).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sumption K., Lubroth J. The global control of FMD; challenges and opportunities. In: Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the EuFMD (October 14–17, 2008, Erice, Italy). Rome: FAO; 2008; 41–45. Режим доступа: <https://www.fao.org/3/k4881e/k4881e.pdf>.
2. Перепел Х. Ящур. М.: Колос; 1971. 432 с.
3. Гусев А. А. 40 лет Всесоюзному научно-исследовательскому ящурному институту – Всероссийскому научно-исследовательскому институту защиты животных: основные итоги и перспективы. Современные аспекты ветеринарной патологии: доклады конференции, посвященной 40-летию со дня основания ВНИИЗЖ (23–25 ноября 1998 г.). Владимир; 1999; 3–11.
4. Рахманов А. М., Узюмов В. Л. История Всесоюзного научно-исследовательского ящурного института (ВНИИЯ, 1958–1992 гг.) и Всероссийского научно-исследовательского института защиты животных (ВНИИЗЖ, 1992–2003 гг.): краткий очерк. Владимир; 2003. 151 с.
5. Белик Е. В., Узюмов В. Л., Рахманов А. М., Борисов В. В. История создания и развития ФГУ «Федеральный центр охраны здоровья животных». Труды Федерального центра охраны здоровья животных. 2008; 6: 6–21. EDN: MOUNLP.
6. Рахманов А. М., Узюмов В. Л. К истории организации и деятельности Всесоюзного научно-исследовательского ящурного института. Ветеринария сегодня. 2013; (1): 5–7. EDN: SWJJB.
7. Груздев К. Н., Рыбаков С. С. Организация и деятельность ФГБУ «Федерального центра охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»). Ветеринария сегодня. 2013; (3): 6–12. EDN: SXYQLR.
8. Перевозчикова Н. А., Лозовой Д. А., Рахманов А. М. Краткий очерк по истории и основным направлениям деятельности ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (к 60-летию организации). Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2018. 120 с. EDN: WTQZY.
9. Бурдов А. Н., Дудников А. И., Мальярец П. В. и др. Ящур. Под ред. А. Н. Бурдова. М.: Агропромиздат; 1990. 320 с.

10. Бурдов А. Н., Дудников А. И., Zubov I. V., Zakharov V. M., Mamkova R. B. Итоги сотрудничества стран – членов СЭВ по проблеме ящура за 1981–1985 гг. *Профилактика и эффективная борьба с ящуром: материалы II Симпозиума специалистов стран – членов СЭВ*. София; 1988; 3–9.

11. Zakharov V. M. Совершенствование противоящурных мероприятий в странах СНГ. *Диагностика, профилактика и меры борьбы с особо опасными и экзотическими болезнями животных: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 40-летию ВНИИВВиМ (9–10 декабря 1998 г.)*. Покров; 1998; 170–172.

12. Авилон В. М., Гусев А. А., Zakharov V. M. Проект создания буферной зоны по ящуру в странах СНГ. *План надзора и контроля за ящуром в СНГ: отчет конференции с участием представителей СНГ, ФАО, МЭБ и ЕС (24 ноября 1998 г.)*. Владимир: ВНИИЗЖ; 1998.

13. Zakharov V. M. Ящур: меры борьбы и их совершенствование в СССР и СНГ. *Современные аспекты ветеринарной патологии: доклады конференции, посвященной 40-летию со дня основания ВНИИЗЖ (23–25 ноября 1998 г.)*. Владимир; 1999; 16–22.

14. Авилон В. М., Гусев А. А., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M., Yremenko N. A. Международный проект создания противоящурной буферной зоны стран СНГ. *Ветеринария*. 2000; 2: 3–7.

15. Rakhmanov A. M. Разработка программы по борьбе с ящуром в странах СНГ. *Актуальные проблемы инфекционной патологии животных: материалы международной научной конференции, посвященной 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ»*. Владимир; 2003; 14–18.

16. Zakharov V. M., Rakhmanov A. M., Gulenkin V. M., Nikolaeva K. P. Современная стратегия борьбы с ящуром в странах СНГ. *Состояние и перспективы развития ветеринарной науки и практики: материалы международной научно-практической конференции, посвященной Государственной программе «АУЛ»*. Алматы; 2003; 123–127.

17. Zakharov V. M., Rakhmanov A. M., Baibikov T. Z., Dudnikov S. A., Gulenkin V. M., Karaulov A. K., Nikolaeva K. P. Программа борьбы с ящуром в странах СНГ. *Актуальные проблемы болезней животных в современных условиях: материалы международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию ФГУ ТаджНИВИ*. Душанбе; 2003; 34–46.

18. Груздев К. Н., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M., Gulenkin V. M., Dudnikov S. A., Karaulov A. K., Nikolaeva K. P. Программа действий по борьбе с ящуром в странах СНГ. *Мониторинг распространения и предотвращения особо опасных болезней животных: материалы 2-й международной научной конференции*. Самарканд; 2004; 55–57.

19. Груздев К. Н., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Программа совместных действий по профилактике и борьбе с ящуром животных в странах СНГ. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2005; 3: 3–13. EDN: UNWYTV.

20. Груздев К. Н., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Программа совместных действий стран СНГ по профилактике и борьбе с ящуром животных и ее реализация в России. *Ветеринарная медицина: міжвід. тем. наук. зб.* 2005; 85 (1): 363–369.

21. Груздев К. Н., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Программа совместных действий государств – участников СНГ по профилактике и борьбе с ящуром животных. *Международный сельскохозяйственный журнал*. 2005; 2: 48–51.

22. Груздев К. Н., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Реализация программы совместных действий стран СНГ по профилактике и борьбе с ящуром и ее совершенствование в современных условиях. *Ветеринарная патология*. 2006; (4): 12–18. EDN: OEDQYN.

23. Груздев К. Н., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Совместные действия стран СНГ в борьбе с ящуром на современном этапе. *Состояние и перспективы оздоровления хозяйства от инфекционных и незаразных болезней сельскохозяйственных животных: материалы международной научно-практической конференции*. Алматы; 2006; 83–87.

24. Глаголева А. Хочешь обезопасить от ящура свою территорию – помоги соседу! *Агробезопасность*. 2011; 4: 30–31.

25. Бурдов А. Н., Zakharov V. M., Toloknov A. S., Dudnikov A. I., Rakhmanov A. M. Международное сотрудничество по проблеме ящура и новые перспективы. *К новой стратегии борьбы с ящуром: материалы международной конференции*. Владимир; 1991; 32–33.

26. Goris N., Merkelbach-Peters P., Diev V., Verloo D., Zakharov V., Kraft H.-P., De Clercq K. European Pharmacopoeia foot-and-mouth disease vaccine potency test: between test variability. In: *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the EuFMD (October 17–20, 2006, Paphos, Cyprus)*. Rome: FAO; 2006; 220–228. Режим доступа: <https://www.fao.org/3/bs520e/bs520e.pdf>.

27. Goris N., Merkelbach-Peters P., Diev V. I., Verloo D., Zakharov V. M., Kraft H.-P., De Clercq K. European Pharmacopoeia foot-and-mouth disease vaccine potency testing in cattle: between test variability and its consequences. *Vaccine*. 2007; 25 (17): 3373–3379. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.12.049.

28. Goris N., Willems T., Diev V. I., Merkelbach-Peters P., Vanbinst T., Van der Stede Y., et al. Indirect foot-and-mouth disease vaccine potency

testing based on a serological alternative. *Vaccine*. 2008; 26 (31): 3870–3879. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.05.013.

29. Банди Ц. Эффективность комплексной системы противоящурных мероприятий при ящуре в Монголии в 2011–2013 гг.: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Владимир; 2013. 26 с. Режим доступа: https://new-dissler.ru/_avtoreferats/01006749764.pdf.

REFERENCES

- Sumption K., Lubroth J. The global control of FMD; challenges and opportunities. In: *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the EuFMD (October 14–17, 2008, Erice, Italy)*. Rome: FAO; 2008; 41–45. Available at: <https://www.fao.org/3/k4881e/k4881e.pdf>.
- Röhner H. Foot-and-mouth disease. Moscow: Kolos; 1971. 432 p. (in Russ.)
- Gusev A. A. 40 let Vsesoyuznomu nauchno-issledovatel'skomu yashchurnomu institutu – Vserossiiskomu nauchno-issledovatel'skomu institutu zashchity zhivotnykh: osnovnye itogi i perspektivy = The 40th anniversary of the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute – the All-Russian Research Institute for Animal Health: main outcomes and prospects. *Sovremennye aspekty veterinarnoi patologii: doklady konferentsii, posvyashchennoi 40-letiyu so dnya osnovaniya VNIIZZh (23–25 noyabrya 1998 g.) = Modern aspects of veterinary pathology: proceedings of the conference dedicated to the 40th ARRIAH anniversary (23–25 November 1998)*. Vladimir; 1999; 3–11. (in Russ.)
- Rakhmanov A. M., Uzyumov V. L. History of the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute (1958–1992) and the ARRIAH (1992–2003): an outline. Vladimir; 2003. 151 p. (in Russ.)
- Belik Ye. V., Uzyumov V. L., Rakhmanov A. M., Borisov V. V. History of the FGI “Federal centre for animal health” foundation and development. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2008; 6: 6–21. EDN: MOUHLR. (in Russ.)
- Rakhmanov A. M., Uzyumov V. L. K istorii organizatsii i deyatelnosti Vsesoyuznogo nauchno-issledovatel'skogo yashchurnogo instituta = More on the history of establishment and activities of the All-Union Foot-and-Mouth Disease Research Institute. *Veterinary Science Today*. 2013; (1): 5–7. EDN: SWJBF. (in Russ.)
- Gruzdev K. N., Rybakov S. S. Organizatsiya i deyatelnost' FGBU «Federal'nogo tsentra okhrany zdorov'ya zhivotnykh» (FGBU «VNIIZZh») = Organization and activities of the FGBI “Federal Centre for Animal Health” (FGBI “ARRIAH”). *Veterinary Science Today*. 2013; (3): 6–12. EDN: SXQLR. (in Russ.)
- Perevozchikova N. A., Lozovoy D. A., Rakhmanov A. M. Brief outline of the history and core activities of the FGBI “Federal Centre for Animal Health” (in commemoration of the 60th anniversary of the institution). Vladimir: FGBI “ARRIAH”; 2018. 120 p. EDN: WTQZY. (in Russ.)
- Burdov A. N., Dudnikov A. I., Malyarets P. V., et al. Foot-and-mouth disease. Ed. by A. N. Burdov. Moscow: Agropromizdat; 1990. 320 p. (in Russ.)
- Burdov A. N., Dudnikov A. I., Zubov I. V., Zakharov V. M., Mamkova R. V. Itogi sotrudnichestva stran – chlenov SEV po probleme yashchura za 1981–1985 gg. = Outcomes of the CMEA member countries' cooperation on foot-and-mouth disease for 1981–1985. *Profilaktika i effektivnaya bor'ba s yashchuram: materialy II Simpoziuma spetsialistov stran – chlenov SEV = Prevention and effective control of foot-and-mouth disease: proceedings of the II Symposium of specialists of the CMEA member countries*. Sofia; 1988; 3–9. (in Russ.)
- Zakharov V. M. Sovershenstvovanie protivoyashchurnykh meropriyatii v stranakh SNG = Improvement of anti-FMD measures in the CIS countries. *Diagnostika, profilaktika i mery bor'by s osobo opasnymi i ekzotichnymi boleznyami zhivotnykh: materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 40-letiyu VNIIVViM (9–10 dekabrya 1998 g.) = Diagnosis, prevention and measures for control of highly dangerous and exotic animal diseases: proceedings of the international research-to-practice conference dedicated to the 40th anniversary of the All-Russian Research Institute of Veterinary Virology and Microbiology (VNIIVViM) (9–10 December 1998)*. Pskov; 1998; 170–172. (in Russ.)
- Avilon V. M., Gusev A. A., Zakharov V. M. Proekt sozdaniya bufernoi zony po yashchuru v stranakh SNG = Project for the establishment of foot-and-mouth disease buffer zone in the CIS countries. *Plan nadzora i kontrolya za yashchuram v SNG: otchet konferentsii s uchastiem predstavitelei SNG, FAO, MEB i ES (24 noyabrya 1998 g.) = Plan for foot-and-mouth disease surveillance and control in the CIS: proceedings of the conference with participation of the CIS, FAO, OIE and EU representatives (24 November 1998)*. Vladimir: ARRIAH; 1998. (in Russ.)
- Zakharov V. M. Yashchur: mery bor'by i ikh sovershenstvovanie v SSSR i SNG = Foot-and-mouth disease: control measures and their improvement in the USSR and the CIS. *Sovremennye aspekty veterinarnoi patologii: doklady konferentsii, posvyashchennoi 40-letiyu so dnya osnovaniya VNIIZZh (23–25 noyabrya 1998 g.) = Modern aspects of veterinary pathology: proceedings of the conference dedicated to the 40th ARRIAH anniversary (23–25 November 1998)*. Vladimir; 1999; 16–22. (in Russ.)

14. Avilov V. M., Gusev A. A., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M., Yaremenko N. A. Mezhdunarodnyi proekt sozdaniya protivoyashchurnoi bufornoj zony stran SNG = International project for the establishment of foot-and-mouth disease buffer zone of the CIS countries. *Veterinariya*. 2000; 2: 3–7. (in Russ.)

15. Rakhmanov A. M. Razrabotka programmy po bor'be s yashchurom v stranakh SNG = Development of the programme for foot-and-mouth disease control in the CIS countries. *Aktual'nye problemy infektsionnoi patologii zhivotnykh: materialy mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii, posvyashchennoi 45-letiyu FGU «VNIIZZh» = Topical issues of animal infectious pathology: proceedings of the international research conference dedicated to the 45th anniversary of the FGI "ARRIAH"*. Vladimir; 2003; 14–18. (in Russ.)

16. Zakharov V. M., Rakhmanov A. M., Gulenkin V. M., Nikolaeva K. P. Sovremennaya strategiya bor'by s yashchurom v stranakh SNG = Current strategy for foot-and-mouth disease control in the CIS countries. *Sostoyanie i perspektivy razvitiya veterinarnoi nauki i praktiki: materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi Gosudarstvennoi programme «AUL» = Current situation and prospects for the development of veterinary science and practice: proceedings of the international research-to-practice conference dedicated to the Governmental Programme "AUL"*. Almaty; 2003; 123–127. (in Russ.)

17. Zakharov V. M., Rakhmanov A. M., Baibikov T. Z., Dudnikov S. A., Gulenkin V. M., Karaulov A. K., Nikolaeva K. P. Programma bor'by s yashchurom v stranakh SNG = Programme for foot-and-mouth disease control in the CIS countries. *Aktual'nye problemy boleznei zhivotnykh v sovremennykh usloviyakh: materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 60-letiyu FGU TadzhNIVI = Topical issues of animal diseases under current conditions: proceedings of the international research-to-practice conference dedicated to the 60th anniversary of the FGI Tadjik Veterinary Research Institute (FGI TadjNIVI)*. Dushanbe; 2003; 34–46. (in Russ.)

18. Gruzdev K. N., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M., Gulenkin V. M., Dudnikov S. A., Karaulov A. K., Nikolaeva K. P. Programma deistvii po bor'be s yashchurom v stranakh SNG = Programme of activities for foot-and-mouth disease control in the CIS countries. *Monitoring rasprostraneniya i predotvrashcheniya osobo opasnykh boleznei zhivotnykh: materialy 2-i mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii = Highly dangerous animal disease occurrence monitoring and prevention: proceedings of the 2nd international research conference*. Samarkand; 2004; 55–57. (in Russ.)

19. Gruzdev K. N., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Programme of joint actions aimed at FMD prevention and control in CIS-countries. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2005; 3: 3–13. EDN: UNWYTV. (in Russ.)

20. Gruzdev K. N., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Programma sovmestnykh deistvii stran SNG po profilaktike i bor'be s yashchurom zhivotnykh i ee realizatsiya v Rossii = Programme of joint activities of the CIS countries for the prevention and control of foot-and-mouth disease in animals and its implementation in Russia. *Veterinary Medicine*. 2005; 85 (1): 363–369. (in Russ.)

21. Gruzdev K. N., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Programma sovmestnykh deistvii gosudarstv – uchastnikov SNG po profilaktike i bor'be

s yashchurom zhivotnykh = Programme of joint activities of the CIS member states for the prevention and control of foot-and-mouth disease in animals. *International Agricultural Journal*. 2005; 2: 48–51. (in Russ.)

22. Gruzdev K. N., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. The realization of the CIS countries' combined action programme for the FMD prevention and control and its up-to-date improvement. *Veterinarnaya patologiya*. 2006; (4): 12–18. EDN: OEDQYN. (in Russ.)

23. Gruzdev K. N., Zakharov V. M., Rakhmanov A. M. Sovmestnye deistviya stran SNG v bor'be s yashchurom na sovremennom etape = Joint activities of the CIS countries for the control of foot-and-mouth disease at the present time. *Sostoyanie i perspektivy ozdorovleniya khozyaistv ot infektsionnykh i nezaraznykh boleznei sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh: materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii = Current situation and prospects for eradication of infectious and non-contagious livestock diseases on farms: proceedings of the international research-to-practice conference*. Almaty; 2006; 83–87. (in Russ.)

24. Glagoleva A. Khochesh' obezopasit' ot yashchura svoyu territoriyu – pomogi sosedu! = Help your neighbor to protect your territory from foot-and-mouth disease! *AgroBezopasnost*. 2011; 4: 30–31. (in Russ.)

25. Burdov A. N., Zakharov V. M., Toloknov A. S., Dudnikov A. I., Rakhmanov A. M. Mezhdunarodnoe sotrudnichestvo po probleme yashchura i novye perspektivy = International cooperation on foot-and-mouth disease and new prospects. *K novoi strategii bor'by s yashchurom: materialy mezhdunarodnoi konferentsii = Towards a new foot-and-mouth disease control strategy: proceedings of the international conference*. Vladimir; 1991; 32–33. (in Russ.)

26. Goris N., Merkelbach-Peters P., Diev V., Verloo D., Zakharov V., Kraft H.-P., De Clercq K. European Pharmacopoeia foot-and-mouth disease vaccine potency test: between test variability. In: *Report of the Session of the Research Group of the Standing Technical Committee of the EuFMD (October 17–20, 2006, Paphos, Cyprus)*. Rome: FAO; 2006; 220–228. Available at: <https://www.fao.org/3/bs520e/bs520e.pdf>.

27. Goris N., Merkelbach-Peters P., Diev V. I., Verloo D., Zakharov V. M., Kraft H.-P., De Clercq K. European Pharmacopoeia foot-and-mouth disease vaccine potency testing in cattle: between test variability and its consequences. *Vaccine*. 2007; 25 (17): 3373–3379. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.12.049.

28. Goris N., Willems T., Diev V. I., Merkelbach-Peters P., Vanbinst T., Van der Stede Y., et al. Indirect foot-and-mouth disease vaccine potency testing based on a serological alternative. *Vaccine*. 2008; 26 (31): 3870–3879. DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.05.013.

29. Bandi Ts. The effectiveness of the comprehensive system of anti-FMD epizootic measures in Mongolia, 2011–2013: Author's Abstract of Thesis for degree of Candidate of Science (Veterinary Medicine). Vladimir; 2013. 26 p. Available at: https://new-disser.ru/_avtoreferats/01006749764.pdf. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 13.02.2023

Поступила после рецензирования / Revised 02.03.2023

Принята к публикации / Accepted 07.04.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Захаров Валерий Михайлович, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; Author ID: 7402991265, e-mail: zaharov@arriah.ru.

Valeriy V. Zakharov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; Author ID: 7402991265, e-mail: zaharov@arriah.ru.

Степень распространения вируса лейкоза крупного рогатого скота в Дагестане

Н. Р. Будулов, М. М. Микаилов, Ш. А. Гунашев, Э. А. Яникова, А. А. Халиков

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

Изложены результаты диагностических исследований на лейкоз в Республике Дагестан в целом и отдельных муниципалитетах за 2022 год (по состоянию на 1 октября), характеризующие распространенность вируса бычьего лейкоза. Всего за анализируемый период подвергнуто серологическому исследованию в реакции иммунодиффузии 632 454 восприимчивых животных, выявлено 3573 положительно реагирующие особи, что составляет 0,6% от числа исследованных. Инфицированность животных в административных районах была равна 0,5%, городах – 1,6%, зонах отгонного животноводства – 1,1%. Степень зараженности поголовья скота варьировала от 0,01 до 4,9%. Ввиду своевременной выбраковки серопозитивных животных гематологические исследования на лейкоз не проводились. В племенном секторе носительство вируса лейкоза определили в среднем в 2,8% случаев. На 01.01.2022 в регионе было зарегистрировано 95 неблагополучных по лейкозу пунктов. За 9 месяцев 2022 г. выявили 81 новый пункт, оздоровили 18 и по состоянию на 1 октября неблагополучными официально объявлены 158 пунктов, в том числе на сельхозпредприятиях – 36 (из них 5 племхозы), в крестьянских (фермерских) – 18 и личных подсобных хозяйствах – 104. Наибольшее количество неблагополучных по лейкозу пунктов зафиксировано в Кизлярском (18), Тарумовском (17), Бабаюртовском (16), Гунибском (15), Тляртинском (10) районах и г. Махачкале (9). В Бежтинском участке, Буйнакском, Дербентском, Казбековском, Каякентском, Кизилюртовском, Хасавюртовском районах и городах Хасавюрте и Южно-Сухокумске регистрировалось по 1 очагу, в Рутульском, Унцукульском районах – по 2; в Гергебильском, Лакском, Новолакском, Цумадинском – по 3; в Сергокалином – 4; в Чародинском – 5, в Ахвахском, Дахадаевском, Карабудахкентском – по 6; в Ботлихском, Кумторкалинском и Шамильском районах – по 7 очагов. При сравнительном анализе серологических и молекулярно-генетических методов диагностики бычьего лейкоза установлено преимущество иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции относительно применяемой в ветеринарной практике реакции иммунодиффузии.

Ключевые слова: лейкоз, вирус лейкоза крупного рогатого скота, распространение, реакция иммунодиффузии, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, Республика Дагестан

Для цитирования: Будулов Н. Р., Микаилов М. М., Гунашев Ш. А., Яникова Э. А., Халиков А. А. Степень распространения вируса лейкоза крупного рогатого скота в Дагестане. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 111–118. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-111-118.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Яникова Эльмира Арслановна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных, Прикаспийский зональный НИВИ – филиал ФГБНУ «ФАНЦ РД», 367000, Россия, Республика Дагестан, г. Махачкала, ул. Дахадаева, 88, e-mail: vetmedservis@mail.ru.

Bovine leukemia virus occurrence in Dagestan

N. R. Budulov, M. M. Mikailov, Sh. A. Gunashev, E. A. Yanikova, A. A. Halikov

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

SUMMARY

Results of diagnostic tests for bovine leukosis carried out in the Dagestan Republic in 2022 (as of October 1, 2022) showing bovine leukemia virus (BLV) occurrence are presented in the paper for the whole Republic and for each municipality separately. In total, 632,454 susceptible animals were serologically tested with immunodiffusion assay; 3,573 reactor animals (0.6% of tested animals) were detected. Proportion of infected animals was as follows: 0.5% – in administrative raions, 1.6% – in urban districts and 1.1% – in distant pasture zones. Percentage of infected cattle varied from 0.01 to 4.9%. No hematological examinations for bovine leukosis were carried out because seropositive animals were timely culled. In the breeding sector, the proportion of bovine leukemia virus carriers was averagely 2.8%. Ninety-five bovine leukosis-affected localities were reported in the region as of 1 January 2022. Eighty-one new BLV-infected localities had been identified and bovine leukosis had been eliminated in 18 localities for 9 months of 2022. Totally, 158 localities were officially declared affected in 2022 (as of October 1, 2022): 36 agricultural holdings (including 5 breeding holdings), 18 small-scale farms and 104 backyard farms. The largest number of bovine leukosis-affected localities was registered in the Kizlyarsky (18), Tarumovsky (17), Babayurtovsky (16), Gunibsky (15), Tlyaratinsky (10) Raions and in the city of Makhachkala (9). One disease-affected locality was reported in each of the Bezhtinsky, Buynaksky, Dербentsky, Kazbekovsky, Kayakentsky, Kizilyurtovsky, Khasavyurtovsky Raions and towns of Khasavyurt and Yuzhno-Sukhokumsk. Two disease-affected localities were reported in each of the Rutulsky, Untsukulsky Raions, three disease-affected localities were reported in each of the Gergebilsky, Laksky, Novolaksky, Tsumadinsky Raions. Four disease-affected localities were reported in the Sergokalinsky Raion, five disease-affected localities were reported in the Charodinsky Raion, six disease-affected localities were reported in each of the Akhvahsky, Dakhadaevsky, Karabudakhkentsky Raions, seven disease-affected localities were reported in each of the Botlikhsky, Kumtorkalinsky and Shamilsky Raions. Comparative analysis of serological and molecular genetic methods used for bovine leukosis diagnosis demonstrated the advantage of enzyme-linked immunosorbent assay and polymerase chain reaction as compared to immunodiffusion assay used in veterinary practice.

© Будулов Н. Р., Микаилов М. М., Гунашев Ш. А., Яникова Э. А., Халиков А. А., 2023

Keywords: bovine leucosis, bovine leukemia virus, occurrence, immunodiffusion assay, enzyme-linked immunosorbent assay, polymerase chain reaction, Republic of Dagestan

For citation: Budulov N. R., Mikailov M. M., Gunashev Sh. A., Yanikova E. A., Halikov A. A. Bovine leukemia virus occurrence in Dagestan. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 111–118. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-111-118.

Conflict of interest: The authors declare about the absence of conflict of interest.

For correspondence: Elmira A. Yanikova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Infectious Pathology of Farm Animals, Caspian Regional Research Veterinary Institute – Branch of Dagestan Agriculture Science Center, 367000, Russia, Dagestan Republic, Makhachkala, ul. Dakhadaeva, 88, e-mail: vetmedservis@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Лейкоз крупного рогатого скота (ЛКРС) – это хроническое инфекционное заболевание, вызываемое РНК-содержащим вирусом бычьего лейкоза, относящееся к семейству *Retroviridae*, роду *Deltaretrovirus*. Лейкозная инфекция имеет широкое распространение во многих странах мира и продолжает оставаться актуальной проблемой на территории большинства субъектов Российской Федерации. Благодаря своевременно проводимым целенаправленным профилактическим и оздоровительным мероприятиям во многих регионах страны достигнуто снижение количества больных и зараженных вирусом животных [1–3].

Убыток, наносимый вирусным лейкозом скотоводческому сектору, достигает огромных масштабов из-за падежа, снижения производительности, необходимой элиминации больных животных, уничтожения туш и различных органов с поражениями лейкозного характера, недополучения молодняка, затрат на пастеризацию молока, сокращения продаж молодняка и срыва селекционной работы [3–6].

По данным информационно-аналитического центра Управления ветнадзора ФГБУ «ВНИИЗЖ», в 2021 г. вирусный ЛКРС регистрировался на территории 65 субъектов. Всего было выявлено 2070 неблагополучных пунктов, 25 осталось нездоровленными/переходящими с 2020 г. Исследовано гематологическим методом 1398,704 тыс. гол., выявлено 15 096 (1,1%) положительно реагирующих особей, сдано на убой 15 611 гол. [7].

Начиная с официальной регистрации ЛКРС (с середины 60-х годов) в качестве нозологического заболевания и использования с конца 80-х годов прошлого века метода серологической идентификации возбудителя с помощью реакции иммунодиффузии (РИД) в агаровом геле в Республике Дагестан отмечался неуклонный рост числа инфицированных и заболевших животных. При этом многочисленные попытки справиться с данной болезнью в большинстве случаев оказывались безуспешными, так как проблеме ликвидации инфекции не уделяли должного внимания, ставя на первый план оздоровление хозяйств от таких хронических инфекционных заболеваний, как бруцеллез и туберкулез [8, 9].

Проведенные нами в 1988–2017 гг. клинико-гематологические и серологические исследования показали значительное распространение заболевания.

Степень инфицированности животных вирусом лейкоза (ВЛКРС) ежегодно колебалась в пределах 1,1–32,2% (в среднем 13,3%), уровень заболеваемости – от 1,09 до 44,9% (в среднем 15,3%). В племенных хозяйствах серопозитивность к ВЛКРС животных была высокой – 28,0% (от 6,4 до 41,5%), количество больных особей составляло 30,6% (от 14,8 до 45,6%) [10, 11]. За весь анализируемый период плановым диагностическим исследованиям подвергалась незначительная часть скота: серологическим – 0,9% и гематологическим – 0,02% от имеющегося в наличии поголовья [12, 13].

Руководствуясь поручением Минсельхоза России¹, в целях обеспечения устойчивого благополучия региона по лейкозу совместно со специалистами Комитета по ветеринарии был разработан план мероприятий² и проект республиканской целевой подпрограммы «Профилактика и ликвидация лейкоза крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Дагестан»³ на 2018–2020 гг., утвержденные постановлением Правительства Республики Дагестан.

С 2018 г. начался продуктивный этап изучения распространения и внедрения мер борьбы с лейкозной инфекцией на территории Дагестана. Анализируя динамику распространения заболевания за последние 4 года, установили снижение инфицированности и рост заболеваемости животных. Так, в 2018 г. носительство ВЛКРС среди тестируемого поголовья составило 4,0% (заболеваемость – 18,2%), в 2019 г. – 2,9% (24,4%), в 2020 г. – 1,4% (17,4%) и в 2021 г. – 1,0% (19,0%), в племенных хозяйствах соответственно 6,3 и 15,6% от числа исследованных. Показатель охвата серологическими и гематологическими исследованиями на лейкоз поголовья скота в муниципальных районах в динамике за 2018–2021 гг.

¹ О подготовке плана мероприятий по борьбе с лейкозом крупного рогатого скота: письмо первого заместителя Министра сельского хозяйства Российской Федерации Д. Х. Хатуева от 27.04.2016 № ДХ-25-27/4786.

² План мероприятий по профилактике и борьбе с лейкозом крупного рогатого скота на территории Республики Дагестан на 2017–2020 годы: утв. распоряжением Правительства Республики Дагестан от 11.09.2017 № 323-р. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/450340001>.

³ О внесении изменений в государственную программу Республики Дагестан «Развитие сельского хозяйства и регулирование рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия на 2014–2020 годы»: утв. постановлением Правительства Республики Дагестан от 28.06.2018 № 76. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/550147549>.

составил соответственно 22,9 и 0,1%; 57,4 и 0,6%; 64,8 и 0,3%; 76,2 и 0,1% [14–16].

Следует отметить, что снижение числа серопозитивных животных достигнуто за счет увеличения охвата поголовья тестированием в ранее благополучных по лейкозу муниципальных районах высокогорной, горной и предгорной провинций республики, а также немедленной выбраковки РИД-позитивных животных без гематологического подтверждения. Увеличение заболеваемости связано с продолжительностью неблагополучия региона по лейкозу, малым охватом гематологическим тестированием серопозитивного в РИД поголовья скота и отсутствием систематических целенаправленных оздоровительных мероприятий.

В регионе за 2018–2021 гг. при реализации целевой подпрограммы выявлено 152 новых очага инфекции, оздоровлено 65 неблагополучных пунктов, к концу 2021 г. было официально зарегистрировано 95 неблагополучных по лейкозу пунктов.

Прижизненная диагностика является основой проводимых противоэпизоотических мероприятий при ЛКРС. Специфичность, чувствительность, легкость технического выполнения и низкая стоимость диагностики определяют ее эффективность.

Одним из факторов, сдерживающих сокращение сроков оздоровления неблагополучных по лейкозу объектов, является несовершенство методов выявления больных животных и вирусоносителей.

В арсенале специалистов ветеринарной лабораторной практики страны для выявления специфических антител к ВЛКРС имеются два серологических метода: РИД в агаровом геле и иммуноферментный анализ (ИФА). С целью ускоренного оздоровления хозяйств от лейкоза ряд исследователей совместно с РИД и ИФА предлагают метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), который позволяет выявлять непосредственно провирусную ДНК или вирусную РНК в образце крови у инфицированного животного [17–19].

Данные методы направлены на установление случая заражения или присутствия возбудителя болезни у животного. Ряд авторов для эффективного проведения оздоровительных противолейкозных мероприятий в неблагополучных по ЛКРС хозяйствах предлагают комплексное применение РИД, ИФА и ПЦР-методов [20–22].

Научная новизна исследований заключается в том, что впервые на основе результатов широкомасштабных серологических исследований крупного рогатого скота дана объективная оценка эпизоотической ситуации по лейкозу в муниципальных районах и зонах отгонного животноводства Республики Дагестан и эффективности серологических и молекулярно-генетических методов его диагностики.

На сегодняшний день актуальными остаются широкомасштабное и многоплановое изучение особенностей эпизоотического процесса ЛКРС, уточнение некоторых теоретических и практических аспектов в целях разработки комплексной системы мер профилактики и борьбы с этой болезнью.

Цель настоящего исследования – изучение степени распространения вируса лейкоза среди крупного рогатого скота на территории Республики Дагестан в целом и в отдельных муниципальных образованиях для дальнейшего выбора оптимальных путей борьбы с данной инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научные исследования выполняли в Прикаспийском зональном НИВИ – филиале ФГБНУ «ФАНЦ РД». В целях изучения эпизоотической обстановки по ЛКРС проанализировали и статистически обработали официальные данные отчетности Комитета по ветеринарии Республики Дагестан, республиканской и районных ветеринарных лабораторий за 2022 г. (по состоянию на 1 октября). Объектом исследования служил крупный рогатый скот различного возраста.

Ветеринарными лабораториями республики работа по обнаружению животных-вирусоносителей в основном проводится с помощью РИД в агаровом геле. Серологические исследования выполняли согласно «Методическим указаниям по диагностике лейкоза крупного рогатого скота»⁴, эпизоотологические – в соответствии с «Методическими рекомендациями по эпизоотологическому исследованию при лейкозе крупного рогатого скота»⁵.

Для сравнительной оценки чувствительности лабораторных методов (РИД, ИФА и ПЦР) диагностики лейкоза брали образцы цельной крови и сыворотки крови от 258 коров старше 3 лет из неблагополучных по ЛКРС хозяйств Гергебильского и Гунибского районов. Исследования выполняли на сертифицированном оборудовании в ГБУ «Кропоткинская краевая ветеринарная лаборатория». Сыворотки крови на носительство вируса лейкоза анализировали в РИД и ИФА с использованием «Набора для серологической диагностики лейкоза крупного рогатого скота» и «Набора для выявления антител к вирусу лейкоза крупного рогатого скота в сыворотке крови и молоке иммуноферментным методом (вариант № 1 – скрининг)», выпускаемых ФКП «Курская биофабрика – фирма «БИОК» (Россия). ПЦР-исследования выполняли с помощью набора реагентов «ПЦР-ЛЕЙКОЗ-КРС-ФАКТОР» производства ООО «ВЕТ ФАКТОР» (Россия).

Статистическую обработку полученных данных и их анализ проводили общепринятыми методами [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наличие положительной динамики снижения уровня инфицированности ВЛКРС при возрастающем числе неблагополучных пунктов свидетельствует о том, что проблема ЛКРС в Дагестане на данный момент остается актуальной. Результаты диагностических исследований на лейкозную инфекцию за анализируемый период в муниципалитетах Дагестана представлены в таблице 1.

В 42 муниципальных районах, 3 городах и 7 зонах отгонного животноводства (ЗОЖ) Дагестана серологическому РИД-тестированию на лейкоз было подвергнуто 632 454 восприимчивых животных, при этом выявлено 3573 (0,6%) положительно реагирующие особи. Инфицированность животных в административных районах составила 0,5%, в городах – 1,6% и ЗОЖ – 1,1%. Зараженность поголовья скота варьировала от 0,01 до 4,9%.

⁴ Методические указания по диагностике лейкоза крупного рогатого скота: утв. Департаментом ветеринарии МСХ РФ от 23.08.2000 № 13-7-2/2130. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200118749>.

⁵ Методические рекомендации по эпизоотологическому исследованию при лейкозе крупного рогатого скота: утв. академиком А. М. Смирновым, Отделение ветеринарной медицины РАСХН 19.06.2001. М.; 2001. 26 с. eLIBRARY ID: 23892805.

Таблица 1

Серологические исследования на лейкоз крупного рогатого скота в муниципалитетах Дагестана в 2022 г. (по состоянию на 1 октября)

Table 1

Serological tests of cattle for bovine leukosis performed in the municipalities of Dagestan in 2022 (as of October 1, 2022)

№ п/п	Район, город, 30Ж*	Наличие КРС, гол.		Исследо- вано**, гол.	Выявлено РИД(+)	
		всего	коров		гол.	%
Район						
1	Агульский	10 795	3434	4136	–	0
2	Акушинский	36 454	21 725	44 002	61	0,1
3	Ахвахский	19 531	8686	13 060	92	0,7
4	Ахтынский	9778	5585	8993	–	0
5	Бабаюртовский	22 130	9344	15 278	91	0,6
6	Бежтинский участок	11 967	5056	8460	–	0
7	Ботлихский	28 169	13 938	25 719	201	0,8
8	Буйнакский	43 730	12 544	20 653	24	0,1
9	Гергебильский	21 896	9768	13 028	52	0,4
10	Гумбетовский	24 350	11 831	16 886	–	0
11	Гунибский	31 506	17 488	21 668	382	1,8
12	Дахадаевский	27 927	12 593	16 271	77	0,5
13	Дербентский	12 991	5271	8661	5	0,06
14	Докузпаринский	8856	4946	10 516	–	0
15	Казбековский	13 587	6964	10 154	–	0
16	Кайтагский	10 439	3754	5808	–	0
17	Карабудахкентский	24 530	7771	11 912	69	0,6
18	Каякентский	9310	4237	6177	18	0,3
19	Кизилюртовский	12 730	7569	11 969	2	0,02
20	Кизлярский	62 299	35 321	22 592	717	3,2
21	Кулинский	17 089	9299	14 141	4	0,03
22	Кумторкалинский	9361	3852	5658	277	4,9
23	Курахский	10 168	5051	6027	–	0
24	Лакский	30 141	12 403	24 910	38	0,2
25	Левашинский	33 987	9598	16 538	2	0,01
26	Магарамкентский	18 716	8461	18 089	–	0
27	Новолакский	10 274	6288	6986	22	0,3

№ п/п	Район, город, 30Ж*	Наличие КРС, гол.		Исследо- вано**, гол.	Выявлено РИД(+)	
		всего	коров		гол.	%
28	Ногайский	22 495	16 229	15 018	3	0,02
29	Рутульский	17 760	7232	12 819	13	0,1
30	Сергокалинский	9732	4605	7136	56	0,8
31	Сулейман-Стальский	11 438	9553	13 184	–	0
32	Табасаранский	22 376	9661	11 497	1	0,01
33	Тарумовский	31 171	19 236	26 335	423	1,6
34	Тляртинский	8692	3953	15 018	3	0,02
35	Унцукульский	19 082	9646	11 665	89	0,8
36	Хасавюртовский	35 290	19 566	26 911	58	0,2
37	Хивский	10 339	3778	5073	–	0
38	Хунзахский	24 262	11 483	13 425	11	0,1
39	Цумадинский	18 963	7583	16 169	54	0,3
40	Цунтинский	8439	4403	3203	–	0
41	Чародинский	16 608	7981	14 138	161	1,1
42	Шамилский	28 192	10 967	22 125	161	0,7
Город						
1	Каспийск	887	480	575	–	0
2	Махачкала	10 908	5928	11 733	238	2,0
3	Хасавюрт	3547	2100	2422	3	0,1
30Ж						
1	Бабаюртовская	4574	1723	1765	61	3,5
2	Бакресская	3263	2433	3062	–	0
3	Дербентская	800	420	1161	–	0
4	Кизилюртовская	2401	1419	2869	47	1,6
5	Кизлярская	3140	2002	2130	57	2,7
6	Кочубейская	3046	2303	3052	–	0
7	Уланхольская	1756	1095	1677	–	0
	Всего	891 872	428 556	632 454	3573	0,6

*ЗОЖ – зона отгонного животноводства (ZAH – zone of animal husbandry);

**некоторые пробы крови КРС были исследованы повторно для уточнения диагноза (blood samples from some cattle were retested for diagnosis confirmation).

За указанный период в целом по региону серологическими исследованиями охвачено 70,9% животных от всего имеющегося в наличии поголовья. Гематологические исследования на лейкоз не проводили ввиду своевременной выбраковки серопозитивных животных.

Рассматривая эпизоотическую ситуацию по лейкозной инфекции в разрезе административных территорий Дагестана, следует отметить, что уровень инфицированности животных ВЛКРС в исследованных районах, городах и ЗОЖ имеет значительные отличия.

В настоящее время в регионе животноводческие сельхозпредприятия 12 муниципальных сельских районов (Агульский, Ахтынский, Бежтинский участок, Гум-

бетовский, Докузпаринский, Казбековский, Кайтагский, Курахский, Магарамкентский, Сулейман-Стальский, Хивский, Цунтинский), г. Каспийск и административных территорий Бакресской, Дербентской, Кочубейской и Уланхольской ЗОЖ свободны от лейкозной инфекции. Неблагополучие по вирусному лейкозу имеет место в 30 сельских районах, городах Махачкале и Хасавюрте и на землях Бабаюртовской, Кизилюртовской и Кизлярской ЗОЖ.

При этом единичные случаи заражения вирусом лейкоза животных выявлены в Дербентском, Кизилюртовском, Кулинском, Левашинском, Ногайском, Табасаранском, Тляртинском районах и г. Хасавюрте.

До 1,0% инфицированных ВЛКРС животных обнаружено на территориях 18 административных районов (Акушинский, Ахвахский, Бабаюртовский, Ботлихский, Буйнакский, Гергебильский, Дахадаевский, Карабудахкентский, Каякентский, Лакский, Новолакский, Рутульский, Сергокалинский, Унцукульский, Хасавюртовский, Хунзахский, Цумадинский, Шамильский).

От 1,0 до 4,9% зараженных ВЛКРС животных зарегистрировано в Гунибском, Кизлярском, Кумторкалинском, Тарумовском, Чародинском районах, г. Махачкале, Бабаюртовской, Кизилюртовской и Кизлярской ЗОЖ.

На племенных предприятиях региона носительство вируса лейкоза у скота молочного направления выявили в 3,5% случаев, мясного – в 0,6% случаев, что

в среднем составило 2,8% от общего числа обследованных животных. Зараженность животных по хозяйствам варьировала от 1,1 до 12,2% (табл. 2). Показатель охвата племенного поголовья серологическими исследованиями составил 65,8%.

Свободными от лейкозной инфекции были 11 хозяйств, в пяти установлен невысокий уровень инфицированности животных – от 1,1 до 3,6%, и только в двух – СХК «Агрофирма «Согратль» Гунибского и АО «Кизлярагрокомплекс» Кизлярского районов – доля зараженных особей составляла по 12,2% от исследованных животных.

Из 18 обследованных племенных статус благополучных по лейкозной инфекции был у 13 (72,2%). Следует

Таблица 2

Серологические исследования на лейкоз крупного рогатого скота в племенных хозяйствах Дагестана в 2022 г. (по состоянию на 1 октября)

Table 2

Serological tests of cattle for bovine leukosis in breeding holdings located in Dagestan in 2022 (as of October 1, 2022)

№ п/п	Район, хозяйство	Направление хозяйства	Наличие КРС, гол.		Исследовано, гол	Выявлено РИД (+)		Статус благополучия
			всего	коров		гол.	%	
Гергебильский								
1	АО «Дарада-Мурада»	молочное	981	645	1809	23	1,3	неблагополучно
2	ПК «Мурад»	мясное	1040	627	500	16	3,2	неблагополучно
3	КФХ «Косуля»	мясное	351	243	301	–	0	благополучно
Гунибский								
4	СХК «Агрофирма «Согратль»	молочное	1049	408	376	46	12,2	неблагополучно
5	КХ «Агрофирма Чох»	молочное	1302	617	614	7	1,1	благополучно
Дахадаевский								
6	СПК «Уллучай»	молочное	129	107	114	–	0	благополучно
Кизилюртовский								
7	СПК «Агрофирма» им. У. Буйнакского	молочное	770	450	573	–	0	благополучно
8	ООО НПФ «Племсервис»	молочное	360	338	558	20	3,6	неблагополучно
9	КФХ «Иман»	молочное	460	304	294	–	0	благополучно
Кизлярский								
10	АО «Кизлярагрокомплекс»	молочное	6159	2762	1578	192	12,2	неблагополучно
Кулинский								
11	СПК «Кулинский»	молочное	795	509	965	–	0	благополучно
12	СПК «Племхоз им. Б. Аминова»	молочное	257	96	273	–	0	благополучно
Хунзахский								
13	СПК Колхоз «Красный партизан»	молочное	380	220	520	11	2,1	благополучно
14	СПК «Алхас Кули»	мясное	257	110	130	–	0	благополучно
Шамильский								
15	СПА «Отгонник»	молочное	285	110	280	–	0	благополучно
16	СПК «Месед»	молочное	356	244	628	–	0	благополучно
Буйнакский								
17	ООО «Курбансервис»	мясное	1504	683	1137	–	0	благополучно
Казбековский								
18	ООО «Вымпел-1»	мясное	484	424	484	–	0	благополучно
Всего			16 919	8897	11 134	315	2,8	

Таблица 3
Результаты диагностического исследования коров на лейкоз
методами РИД, ИФА и ПЦР

Table 3
Results of diagnostic tests of cows for bovine leukosis with AGID, ELISA and PCR

Количество исследованных проб	Выявлено носителей ВЛКРС, гол./%		
	РИД	ИФА	ПЦР
258	88/34,1	95/36,8	102/39,5

отметить, что КХ «Агрофирма Чох» и СПК Колхоз «Красный партизан», где регистрировались единичные случаи выявления инфицированных ВЛКРС животных, не объявлены неблагополучными.

На 1 января 2022 г. в Дагестане насчитывалось 95 неблагополучных по ЛКРС пунктов, которые перешли с 2021 г. За 9 месяцев выявлен 81 новый очаг лейкозной инфекции и на 01.10.2022 регистрировалось 158 неблагополучных пунктов: сельхозпредприятия – 36 (из них 5 – племенные хозяйства), крестьянские (фермерские) – 18, личные подсобные хозяйства населения – 104.

Максимальное число неблагополучных пунктов зафиксировано в Кизлярском (18), Тарумовском (17), Бабаюртовском (16), Гунибском (15), Тляртинском (10) районах, г. Махачкале (9). В Бежтинском участке, Буйнакском, Дербентском, Казбековском, Каякентском, Кизилюртовском, Хасавюртовском районах и городах Хасавюрте и Южно-Сухокумске регистрировалось по 1 очагу; в Рутульском, Унцукульском районах – по 2; в Гергебильском, Лакском, Новолакском, Цумадинском – по 3; в Сергокалинском – 4; в Чародинском – 5; в Ахвахском, Дахадаевском, Карабудахкентском – по 6; в Ботлихском, Кумторкалинском и Шамильском районах – по 7 очагов. Большинство неблагополучных по лейкозу пунктов расположены в плоскостной (равнинной) зоне – 97,5%, остальные в предгорной – 2,5%. На территории горной и высокогорной зон среди обследованного поголовья скота наличие ВЛКРС не отмечено.

Современным правовым актом, регламентирующим решение лейкозного вопроса государством и региональными властями, является приказ МСХ РФ от 24.03.2021 № 156⁶. Со вступлением в силу данного закона существенно изменился подход к постановке диагноза, признанию пунктов неблагополучными и оздоровлению зараженного вирусом лейкоза поголовья скота. В отношении диагностики новые ветеринарные правила регламентируют внедрение в ветеринарную практику высокочувствительных современных (ИФА и ПЦР) методов ранней диагностики лейкоза с целью скорейшего оздоровления неблагополучных хозяйств.

Результаты исследования образцов крови коров на лейкоз различными методами представлены в таблице 3.

При сравнительном анализе серологических (РИД, ИФА) и молекулярно-генетического (ПЦР) методов диагностики лейкоза установлено преимущество иммуноферментного анализа и полимеразной цепной реакции

относительно применяемой в ветеринарной практике реакции иммунодиффузии. С помощью ИФА было выявлено на 2,7%, с помощью ПЦР-метода – на 5,4% больше случаев инфицирования вирусом лейкоза животных, отрицательных в РИД. Следует отметить, что все РИД-позитивные пробы в 100% случаев были также положительны в ИФА и ПЦР.

Для реализации и внедрения в ветеринарную практику региона современных методов тестирования животных разработаны и предложены «Учебно-методические рекомендации по диагностике и сокращению сроков ликвидации лейкоза крупного рогатого скота в неблагополучных хозяйствах Республики Дагестан» [24].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ приведенных в статье данных показал, что бычий лейкоз остается серьезной проблемой для животноводства Республики Дагестан, так как при наличии положительной динамики снижения уровня инфицированности вирусом лейкоза животных имеет место возрастающее число неблагополучных пунктов, особенно в личных подсобных хозяйствах населения. Для выявления всех серопозитивных животных следует увеличить охват поголовья скота диагностическими исследованиями, включая молодняк в возрасте 6, 12, 18 мес. и перед вводом в основное стадо.

В хозяйствах, где все еще обнаруживаются зараженные вирусом лейкоза восприимчивые животные, необходимо принять меры к полному оздоровлению путем увеличения кратности серологических исследований в группе серонегативных до получения двух подряд отрицательных результатов.

Для максимального выявления серопозитивных животных – носителей ВЛКРС предложено комплексное использование методов РИД, ИФА и ПЦР как перспективной системы в противолейкозных мероприятиях. Внедрение ИФА- и ПЦР-диагностики в ветеринарную практику Республики Дагестан позволит определять раннее вирусоносительство у телят (до первой выпойки молозива исследуют сыворотку крови методом ИФА; с 15–20-го дня жизни теленка – ПЦР-методом), а также повысить эффективность и сократить сроки оздоровительных мероприятий на заключительных этапах оздоровления сельскохозяйственных формирований от лейкозной инфекции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гулюкин М. И., Гулюкин А. М., Донченко А. С., Донченко Н. А., Барсуков Ю. И., Логинов С. И. и др. Анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Сибирском федеральном округе. *Сибирской вестник сельскохозяйственной науки*. 2021; 51 (4): 67–75. DOI: 10.26898/0370-8799-2021-4-8.
2. Зюзина С. В., Зиновьева О. Е., Нурлыгаянова Г. А. Анализ лабораторной диагностики вируса лейкоза крупного рогатого скота в Северо-Кавказском федеральном округе за период с 2019 по 2021 гг. *Горное сельское хозяйство*. 2022; 3: 72–75. DOI: 10.25691/GSH.2022.3.017.
3. Схатум А. К., Басова Н. Ю., Староселов М. А., Пачина В. В., Тихонов С. В. Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в хозяйствах Краснодарского края. *Ветеринария Кубани*. 2019; 3: 10–13. DOI: 10.33861/2071-8020-2019-3-10-13.
4. 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 и 2015 годы. *Ветеринария и кормление*. 2016; 4: 5–41. EDN: WFIZOZ.
5. Гулюкин М. И., Забережный А. Д., Юров К. П., Шабейкин А. А., Барабанов И. И., Степанова Т. В., Лопунов С. В. Научно-обоснованная модель противоэпизоотических мероприятий при лейкозе крупного

⁶ Ветеринарные правила осуществления профилактических, диагностических, ограничительных и иных мероприятий, установления и отмены карантина и иных ограничений, направленных на предотвращение распространения и ликвидацию очагов лейкоза крупного рогатого скота: утв. приказом МСХ РФ от 24.03.2021 № 156. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/603433105>.

рогатого скота. *Ветеринария и кормление*. 2018; 1: 4–7. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-1-1.

6. Тазаян А. Н., Тамбиев Т. С., Васильев А. В. Мониторинг эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Ростовской области. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2022; 8 (122). DOI: 10.23670/IRJ.2022.122.51.

7. Караулов А. К., Варкентин А. В., Петрова О. Н., Таценко Е. Е., Семёнова Е. А., Щербинин С. В. и др. Эпизоотическая ситуация в Российской Федерации за 2021 год. ФГБУ «ВНИИЗЖ». Режим доступа: https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/2022/2021_31_12_godovoy_otchet.pdf.

8. Будулов Н. Р., Устарханов П. Д., Салихов Ю. С., Мустафаев А. Р. Эпизоотическая обстановка по лейкозу крупного рогатого скота в сельскохозяйственных предприятиях Дагестана. *Вестник ветеринарии*. 2004; 3 (30): 7–12. EDN: JUSXGD.

9. Будулов Н. Р., Нуратинов Р. А. Эпизоотологический мониторинг лейкоза и туберкулеза крупного рогатого скота в хозяйствах Республики Дагестан. *Ветеринарная патология*. 2007; 2 (21): 123–127. EDN: OEZJNT.

10. Кабардиев С. Ш., Будулов Н. Р., Гайдарбекова Х. М., Рагимова Т. Т. Эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в племенных хозяйствах Дагестана. *Ветеринарная патология*. 2008; 2 (25): 67–68. EDN: OEDSZF.

11. Будулов Н. Р., Шихрагимов Э. М., Мусаева М. Н., Салихов Ю. С., Гайдарбекова Х. М. Лейкоз крупного рогатого скота в Прикаспийском регионе Российской Федерации. *Вестник ветеринарии*. 2012; 3 (62): 45–51. EDN: PAVARL.

12. Будулов Н. Р., Салихов Ю. С., Шихрагимов Э. М., Мусаева М. Н., Гайдарбекова Х. М. Сравнительный анализ эпизоотической ситуации по лейкозу крупного рогатого скота в Республике Дагестан за последние три года. *Вестник ветеринарии*. 2016; 2 (77): 62–65. EDN: VZRSOJ.

13. Будулов Н. Р., Шихрагимов Э. М., Салихов Ю. С., Мусаева М. Н., Гайдарбекова Х. М. Динамика распространения лейкоза крупного рогатого скота в Республике Дагестан. *Ветеринария и кормление*. 2017; 5: 23–25. EDN: ZOFMSF.

14. Будулов Н. Р., Алиев А. Ю. Распространение и меры борьбы с лейкозом крупного рогатого скота в Республике Дагестан. *Ветеринария*. 2021; 6: 15–20. DOI: 10.30896/0042-4846/2021.24.6.15-20.

15. Будулов Н. Р., Юсупов О. Ю., Салихов Ю. С., Шихрагимов Э. М. Мониторинг лейкоза крупного рогатого скота в племенных хозяйствах Республики Дагестан. *Ветеринарная патология*. 2020; 2 (72): 25–30. DOI: 10.25690/VETPAT.2020.72.2.007.

16. Будулов Н. Р. Объективная эпизоотическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Дагестане. *Ветеринария и кормление*. 2021; 4: 15–18. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-4-4.

17. Пономарева И. С., Сычева М. В., Поляков М. А., Нургалиева Р. М., Карташова О. Л. Эффективность диагностики лейкоза крупного рогатого скота методами РИД, ИФА и ПЦР в хозяйствах Оренбургской области. *Современные наукоемкие технологии*. 2010; 9: 134. EDN: NAWUPJ.

18. Donnik I., Ponomareva O., Chernykh O., Lysenko A., Mikailov M., Gunashev Sh., et al. Improving diagnostic and eliminating techniques of bovine leukemia in the Russian Federation. *JPRI*. 2021; 33 (60B): 3078–3084. DOI: 10.9734/jpri/2021/v33i60B34980.

19. Mohammadabadi M. R., Soflaei M., Mostafavi H., Honarmand M. Using PCR for early diagnosis of bovine leukemia virus infection in some native cattle. *Genet. Mol. Res.* 2011; 10 (4): 2658–2663. DOI: 10.4238/2011.October.27.2.

20. Петропавловский М. В., Безбородова Н. А., Романова А. С., Лысов А. В., Кожуховская В. В. Опыт применения полимеразной цепной реакции при диагностике вируса лейкоза крупного рогатого скота и ее эффективность на разных этапах проведения оздоровительных мероприятий. *Аграрный вестник Урала*. 2019; 12 (191): 52–59. DOI: 10.32417/1997-4868-2019-191-12-52-59.

21. Логинов С. И. Анализ эффективности применения иммуноферментного анализа для диагностики лейкоза крупного рогатого скота при проведении оздоровительных мероприятий. *Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет)*. 2020; (4): 95–102. DOI: 10.31677/2072-6724-2020-57-4-95-102.

22. Saepulloh M., Sendow I. Efektivitas metode PCR dan AGID dalam mendeteksi penyakit *Enzootic Bovine Leucosis* di Indonesia = Effectivity of PCR and AGID methods to detect of enzootic bovine leucosis in Indonesia. *JITV*. 2015; 20 (1): 71–78. DOI: 10.10.14334/jitv.v20i1.1120.

23. Конопаткин А. А., Бакулов И. А., Нуйкин Я. В., Артемов Б. Т., Бесарабов Б. Ф., Кадымова Р. А. и др. Эпизоотология и инфекционные болезни сельскохозяйственных животных: учебное пособие. Под ред. А. А. Конопаткина. М.: Колос; 1984. 544 с.

24. Пономарева О. И., Черных О. Ю., Лысенко А. А., Дмитриев А. Ф., Беляев В. А., Будулов Н. Р. и др. Учебно-методические рекомендации по диагностике и сокращению сроков ликвидации лейкоза крупного рогатого скота в неблагополучных хозяйствах Республики Дагестан. Махачкала; 2021; 62 с.

REFERENCES

1. Gulyukin M. I., Gulyukin A. M., Donchenko A. S., Donchenko N. A., Barsukov Yu. I., Loginov S. I., et al. Analysis of the epizootic situation of cattle leukemia in the Siberian Federal District. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2021; 51 (4): 67–75. DOI: 10.26898/0370-8799-2021-4-8. (in Russ.)

2. Zyuzgina S. V., Zinovieva O. E., Nurlygayanova G. A. Analysis of laboratory diagnosis of bovine leukemia virus in the North Caucasus Federal District from 2019 to 2021. *Mining agriculture*. 2022; 3: 72–75. DOI: 10.25691/GSH.2022.3.017. (in Russ.)

3. Skhatun A. K., Basova N. Yu., Staroselov M. A., Pachina V. V., Tikhonov S. V. Epizootic situation on bovine leucose in farms of Krasnodar region. *Veterinaria Kubani*. 2019; 3: 10–13. DOI: 10.33861/2071-8020-2019-3-10-13. (in Russ.)

4. Gulyukin M. I., Barabanov I. I., Ivanova L. A., Stepanova T. V., Kozireva N. G., Simonian G. A., 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. EDN: WFIZOZ. (in Russ.)

5. Gulyukin M. I., Zaberezhny A. D., Yurov K. P., Shabeykin A. A., Barabanov I. I., Stepanova T. V., Lopunov S. V. Scientifically sound model of antiepidemic measures in the bovine leukemia. *Veterinaria i kormlenie*. 2018; 1: 4–7. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-1-1. (in Russ.)

6. Tazayan A. N., Tambiev T. S., Vasiliev A. V. Monitoring of the epizootic situation with cattle leukosis in the Rostov Oblast. *International Research Journal*. 2022; 8 (122). DOI: 10.23670/IRJ.2022.122.51. (in Russ.)

7. Karaulov A. K., Varkentin A. V., Petrova O. N., Tatsenko E. E., Semёnova E. A., Scherbinin S. V., et al. Epizootic situation in the Russian Federation in 2021. FGBI "ARRIAH". Available at: https://fsvps.gov.ru/sites/default/files/files/iac/2022/2021_31_12_godovoy_otchet.pdf. (in Russ.)

8. Budulov N. R., Ustarkhanov P. D., Salikhov Yu. S., Mustafayev A. R. Epizooticheskaya obstanovka po leikozu krupnogo rogatogo skota v sel'khoz-predpriyatiyakh Dagestana = Epizootic situation for bovine leukosis in agricultural holdings of Dagestan. *Vestnik veterinarii*. 2004; 3 (30): 7–12. EDN: JUSXGD. (in Russ.)

9. Budulov N. R., Nuratinov R. A. Epizootologicheskii monitoring leikoza i tuberkuleza krupnogo rogatogo skota v khozyaistvakh Respubliki Dagestan = Epizootological monitoring of bovine leukosis and tuberculosis in holdings located in the Republic of Dagestan. *Veterinarnaya patologiya*. 2007; 2 (21): 123–127. EDN: OEZJNT. (in Russ.)

10. Kabardiev S. Sh., Budulov N. R., Gaydarbekova H. M., Ragimova T. T. Epizooticheskaya situatsiya po leikozu krupnogo rogatogo skota v plemennykh khozyaistvakh Dagestana = Epizootic situation for bovine leukosis in breeding holdings in Dagestan. *Veterinarnaya patologiya*. 2008; 2 (25): 67–68. EDN: OEDSZF. (in Russ.)

11. Budulov N. R., Shikhragimov E. M., Musaeva M. N., Salikhov Yu. S., Gaydarbekova H. M. Leucosis of cattle in the Cis-Caspian Region of Russian Federation. *Vestnik veterinarii*. 2012; 3 (62): 45–51. EDN: PAVARL. (in Russ.)

12. Budulov N. R., Salikhov Yu. S., Shikhragimov E. M., Musaeva M. N., Gaydarbekova H. M. Epizootic situation concerning bovine leukemia in the Dagestan Republic during the last three years. *Vestnik veterinarii*. 2016; 2 (77): 62–65. EDN: VZRSOJ. (in Russ.)

13. Budulov N. R., Shikhragimov E. M., Salikhov Yu. S., Musaeva M. N., Gaydarbekova H. M. Dynamics of the spread of leukemia of cattle in Dagestan Republic. *Veterinaria i kormlenie*. 2017; 5: 23–25. EDN: ZOFMSF. (in Russ.)

14. Budulov N. R., Aliev A. Yu. Distribution and control measures with cattle leukemia in Dagestan Republic. *Veterinariya*. 2021; 6: 15–20. DOI: 10.30896/0042-4846/2021.24.6.15-20. (in Russ.)

15. Budulov N. R., Yusupov O. Yu., Salikhov Yu. S., Shikhragimov E. M. Monitoring of cattle leukosis in the breeding farms of the Dagestan Republic. *Veterinary pathology*. 2020; 2 (72): 25–30. DOI: 10.25690/VETPAT.2020.72.2.007. (in Russ.)

16. Budulov N. R. Objective epizootic situation on cattle leukemia in Dagestan. *Veterinaria i kormlenie*. 2021; 4: 15–18. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-4-4. (in Russ.)

17. Ponomareva I. S., Sycheva M. V., Polyakov M. A., Nurgalieva R. M., Kartashova O. L. Effektivnost' diagnostiki leikoza krupnogo rogatogo skota metodami RID, IFA i PtsR v khozyaistvakh Orenburgskoi Oblasti = Effectiveness of bovine leukosis diagnosis with AGID, ELISA and PCR in holdings located in the Orenburg Oblast. *Modern High Technologies*. 2010; 9: 134. EDN: NAWUPJ. (in Russ.)

18. Donnik I., Ponomareva O., Chernykh O., Lysenko A., Mikailov M., Gunashev Sh., et al. Improving diagnostic and eliminating techniques of bovine leukemia in the Russian Federation. *JPRI*. 2021; 33 (60B): 3078–3084. DOI: 10.9734/jpri/2021/v33i60B34980.

19. Mohammadabadi M. R., Soflaei M., Mostafavi H., Honarmand M. Using PCR for early diagnosis of bovine leukemia virus infection in some native cattle. *Genet. Mol. Res.* 2011; 10 (4): 2658–2663. DOI: 10.4238/2011.October.27.2.

20. Petrovavlovskiy M. V., Bezborodova N. A., Romanova A. S., Lysov A. V., Kozhukhovskaya V. V. Experience in the use of polymerase chain reaction

in the diagnosis of bovine leukemia virus and its effectiveness at different stages of health activities. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2019; 12 (191): 52–59. DOI: 10.32417/1997-4868-2019-191-12-52-59. (in Russ.)

21. Loginov S. I. Analysis of the effectiveness of the use of enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of leukemia in cattle during health-improving activities. *Bulletin of NSAU (Novosibirsk State Agrarian University)*. 2020; (4): 95–102. DOI: 10.31677/2072-6724-2020-57-4-95-102. (in Russ.)

22. Saepullo M., Sendow I. Efektivitas metode PCR dan AGID dalam mendeteksi penyakit *Enzootic Bovine Leucosis* di Indonesia = Effectivity of PCR and AGID methods to detect of enzootic bovine leucosis in Indonesia. *JITV*. 2015; 20 (1): 71–78. DOI: 10.10.14334/jitv.v20i1.1120. (in Indonesian)

23. Konopatkin A. A., Bakulov I. A., Nuikin Ya. V., Artemov B. T., Bessarabov B. F., Kadyanova R. A., et al. Epizootology and infectious live-stock diseases: study guide. Ed. by A. A. Konopatkin. Moscow: Kolos; 1984. 544 p. (in Russ.)

24. Ponomareva O. I., Chernykh O. Yu., Lysenko A. A., Dmitriev A. F., Belyaev V. A., Budulov N. R., et al. Methodical guidelines for bovine leukosis diagnosis and shortening the disease elimination period in the disease-affected holdings in the Republic of Dagestan. *Makhachkala*; 2021; 62 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 27.01.2023

Поступила после рецензирования / Revised 09.03.2023

Принята к публикации / Accepted 27.03.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Будулов Нурдин Рагимханович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4974-7917>, e-mail: budulov1951@mail.ru.

Микайлов Михаил Муслимович, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9620-431X>, e-mail: mikhail.mikhailov1981@mail.ru.

Гунашев Шахрудин Алиевич, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4804-2755>, e-mail: sgunashev@mail.ru.

Яникова Эльмира Арслановна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5561-2499>, e-mail: vetmedservis@mail.ru.

Халиков Ахмед Алиасхабович, кандидат ветеринарных наук, научный сотрудник лаборатории инфекционной патологии сельскохозяйственных животных Прикаспийского зонального НИВИ – филиала ФГБНУ «ФАНЦ РД», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9765-008X>, e-mail: axmedx93@mail.ru.

Nuridin R. Budulov, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, 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/0000-0003-4974-7917>, e-mail: budulov1951@mail.ru.

Mikhail M. Mikhailov, 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; <https://orcid.org/0000-0002-9620-431X>, e-mail: mikhail.mikhailov1981@mail.ru.

Shakhruddin A. Gunashev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, 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/0000-0003-4804-2755>, e-mail: sgunashev@mail.ru.

Elmira A. Yanikova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, 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/0000-0002-5561-2499>, e-mail: vetmedservis@mail.ru.

Ahmed A. Khalikov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Researcher, 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/0000-0002-9765-008X>, e-mail: axmedx93@mail.ru.



Эффективность использования данных, полученных с электронной системы роботизированного доения, при комплексной диагностике мастита у коров

М. Н. Исакова, М. В. Ряпосова

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

РЕЗЮМЕ

Важную роль в снижении заболеваемости молочного стада маститом играют ранняя диагностика и своевременные лечебные мероприятия. В результате исследования животных ($n = 61$), доение которых осуществлялось при помощи автоматизированной системы добровольного доения VMS™ V300 (DeLaval, Швеция), установлено, что за период наблюдения, равный 10 300 актам доения, средний надой составил 15,03 кг ($min - 4,50$ кг, $max - 24,52$ кг); средняя продолжительность доения по группе – 8 мин 14 сек ($min - 5$ мин 24 сек, $max - 12$ мин 29 сек). Период времени, за которое происходил цикл доения большинства коров (67,2%), соответствовал нормативным показателям и составил 4–7 мин, у 32,7% животных средняя продолжительность доения была более 8 мин. Средний интервал между доениями в исследуемой группе животных равнялся 11 ч 30 мин ($min - 6$ ч 04 мин, $max - 18$ ч 54 мин). Средняя электропроводность молока по всей группе животных составила 4,14 1/Ом×см³. Определили, что средний показатель MDi (индекс выявления мастита) был равен 1,16 с диапазоном от 1,03 до 1,41. Минимальное и максимальное значение MDi находилось на уровне 1,0 и 1,1 соответственно. Диагностическое увеличение индекса MDi в пределах 1,8–2,2 наблюдали у 24,6% животных. Достоверное повышение индекса более 2,2 установлено у 21,3% высокопродуктивных коров. Все животные с уровнем MDi более 1,8 (28 гол.) были обследованы на мастит, воспалительные реакции в вымени обнаружили у 28,6% особей, клиническое и скрытое воспаление имели 7,1 и 21,4% коров соответственно. При исследовании секрета молочной железы установили, что у 45,9 и 37,7% животных среднее содержание соматических клеток находилось в диапазоне до 200 и 201–300 тыс/мл соответственно. В секрете вымени 4,9% коров содержалось 301–400 тыс/мл соматических клеток, у 9,8% исследуемых животных показатель был на уровне 401–700 тыс/мл, у 1,6% – свыше 701 тыс/мл. Микробиологические и ПЦР-исследования проб секрета молочной железы от животных с маститом показали, что спектр возбудителей контагиозного и колиформного маститов представлен: *Staphylococcus* spp. (*St. epidermidis*, *St. saprophyticus*, *St. haemolyticus*), *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*. Установлено, что для выявления мастита в стаде должны быть использованы различные инструменты диагностики, а полученные данные с автоматизированных систем добровольного доения, такие как индекс выявления мастита (MDi), могут применяться для более раннего выявления изменений, происходящих в молочной железе коров.

Ключевые слова: высокопродуктивные коровы, мастит, диагностика, автоматизированные системы добровольного доения, надой, продолжительность доения, интервал между доениями, электропроводность, индекс выявления мастита (MDi), соматические клетки, возбудители мастита, контагиозный мастит, колиформный мастит

Благодарности: Исследования выполнены в рамках государственного задания Минобрнауки России по теме № 0532-2021-0009 «Разработка биологических технологий управления здоровьем животных и прижизненного формирования качества продукции животноводства и птицеводства».

Для цитирования: Исакова М. Н., Ряпосова М. В. Эффективность использования данных, полученных с электронной системы роботизированного доения, при комплексной диагностике мастита у коров. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 119–125. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-119-125.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Исакова Мария Николаевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела репродуктивной биологии и неонатологии ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, 620142, Россия, г. Екатеринбург, ул. Белинского, 112а, e-mail: tmarya105@yandex.ru.

Efficiency of the data generated by the robotic milking system for comprehensive diagnosis of mastitis in cows

M. N. Isakova, 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

Early mastitis diagnosis and treatment play a significant role in reducing the disease incidence in a dairy herd. Examination of the animals ($n = 61$) milked with VMS™ V300 automated voluntary milking system (DeLaval, Sweden) showed that mean milk yield was 15.03 kg ($min - 4.50$ kg, $max - 24.52$ kg); mean milking time in the group was 8 min 14 sec ($min - 5$ min 24 sec, $max - 12$ min 29 sec) during the observation period equal to 10,300 milkings. Milking time for the majority of the cows (67.2%) complied with the standards and equaled to 4–7 min, mean milking time for 32.7% of the animals was 8 minutes. Mean interval between milkings in the test animal group was 11 hours 30 minutes ($min - 6$ h 04 min, $max - 18$ h 54 min). Mean electrical conductivity of the milk was 4.14 1/Ом×см³ for

the whole group of animals. Determined mean mastitis detection index (MDi) was 1.6 and varied in the range of 1.03 to 1.41. Minimal and maximal MDi was 1.0 and 11.1, respectively. Diagnostically representative increase in MDi within 1.8–2.2 was observed in 24.6% of animals. Significant MDi increase to more than 2.2 was found in 21.3% of high-yielding cows. All animals with MDi higher than 1.8 (28 animals) were examined for mastitis. Inflammatory reactions in udder were detected in 28.6% of the animals, clinical and latent inflammations were detected in 7.1 and 21.4% of the cows, respectively. Tests of mammary gland secretion showed that average somatic cell count was up to 200 and 201–300 ths cells/mL in 45.9 and 37.7% of the animals, respectively. Udder secretions of 4.9% of cows contained 301–400 ths somatic cells/mL. In 9.8% of tested animals average somatic count was 401–700 ths somatic cells/mL, and in 1.6% of the animals – more than 701 ths somatic cells/mL. Microbiological and PCR tests of mammary gland secretion samples taken from the animals with mastitis detected the following contagious and coliform mastitis agents: *Staphylococcus* spp. (*St. epidermidis*, *St. saprophyticus*, *St. haemolyticus*), *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*. Various diagnostic techniques are found to be used for detection of mastitis in the herd and the data generated by robotic voluntary milking station such as mastitis detection index (MDi) can be used for earlier detection of changes in cow's mammary gland.

Keywords: high-yielding cows, mastitis, diagnosis, robotic voluntary milking systems, milk yields, milking time, interval between milkings, electrical conductivity, mastitis detection index (MDi), somatic cells, mastitis agents, contagious mastitis, coliform mastitis

Acknowledgements: The study was performed within the governmental programme of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, No. 0532-2021-0009 "Development of biological technologies for animal health management and lifetime animal and poultry product quality management".

For citation: Isakova M. N., Ryaposova M. V. Efficiency of the data generated by the robotic milking system for comprehensive diagnosis of mastitis in cows. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 119–125. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-119-125.

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

For correspondence: Mariya N. Isakova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Department of Reproductive Biology and Neonatology, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, 620142, Russia, Ekaterinburg, ul. Belinsky, 112a, e-mail: tmariya105@yandex.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В современной отрасли молочного животноводства большое значение отводится проблеме увеличения объемов производства молока, при этом особое внимание уделяется повышению качества получаемого сырого продукта [1–3]. На первичном этапе производства одним из факторов снижения качественных показателей продукта является наличие воспалительного процесса в молочной железе коров [3–5]. Мастит высокопродуктивных коров представляет собой финансово значимую проблему, особенно в системе молочного производства. Воспалительные заболевания молочной железы коров являются одним из препятствий получения и реализации на перерабатывающие предприятия сырого молока экстра и высшего сорта. Связано это с высоким содержанием соматических клеток (СК) в молоке, особенно у животных со скрыто протекающей формой мастита, повышенной обсемененностью молока патогенной и условно-патогенной микрофлорой, изменением процентного соотношения белка и жира в молоке [6]. В связи с этим ранняя диагностика и своевременные лечебные мероприятия играют важную роль в снижении заболеваемости молочного стада. Определение и анализ уровня СК в молоке коров дает возможность диагностировать на более раннем этапе субклиническую форму мастита, при которой клинических проявлений заболевания не наблюдается. Проведение микробиологических и ПЦР-исследований секрета молочной железы позволяет определить спектр возбудителей, способных вызывать воспалительные процессы в вымени коров, и установить этиологию заболевания. В последние годы в нашей стране наблюдается устойчивая тенденция строительства крупных молочных комплексов для содержания большого поголовья лактирующих коров, что затрудняет проведение диагностики на первоначальных

стадиях развития патологического процесса в молочной железе. В решении данной проблемы могут быть использованы автоматические доильные системы, способные регистрировать различные параметры во время процесса доения, их анализ позволит обнаруживать изменения в молочной железе коров [7].

Автоматические доильные системы (AMS) впервые были внедрены на молочных фермах в 1990-х гг. [8]. На протяжении нескольких десятилетий в отрасли молочного животноводства нашей страны происходит переход на автоматизированный труд [9–14]. AMS все чаще начинают использовать в производственной практике за счет несомненных достоинств, таких как улучшение качества молока и снижение затрат на оплату труда [12–16]. Эта технология добровольного доения молочного скота обеспечивает полную автоматизацию процесса, основана на компьютерном управлении и позволяет многократно увеличить частоту доения. AMS имеют большое значение для экономических, технических и социальных аспектов ведения сельского хозяйства, а также физиологии, здоровья и благополучия животных [17–21]. При использовании данных автоматизированных систем контроль состояния вымени коров при каждом доении не осуществляется, поэтому анализ онлайн-измерений имеет большое значение [22–24]. Показатели, полученные роботами-дойрами, могут варьировать в зависимости от модели и комплектации оборудования. К стандартным показателям, которые необходимо контролировать, относятся надои, продолжительность доения, интервал между доениями, электропроводность молока, наличие в нем крови [12, 24, 25]. Менее известным параметром является индекс выявления мастита (MDi), рассчитываемый с учетом электропроводности молока, интервала между доениями и наличия крови в каждой четверти вымени [12]. В настоящее время основную информацию

об этом индексе можно найти только в руководстве пользователя доильной системы DeLaval VMS™ (Швеция). Индекс MDi может находиться в диапазоне от 0,8 до 4,0, и если он ниже 1,8, это означает, что у данного животного нет проблем со здоровьем молочной железы; значение выше 1,8 указывает на то, что необходимо установить наблюдение за конкретной коровой в отношении диагностики на мастит; уровень более 2,2 сигнализирует о том, что в вымени животного имеется воспалительный процесс. Однако точных научных доказательств взаимосвязи индекса MDi и мастита у высокопродуктивных коров недостаточно.

Цель данного исследования заключалась в проведении комплексной диагностики мастита коров, анализе показателей, получаемых с автоматизированной системы добровольного доения, а также оценке эффективности использования индекса MDi для диагностики мастита у коров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена в 2020–2021 гг. в отделе репродуктивных технологий ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН в рамках государственного задания Минобрнауки России по направлению 160 Программы ФНИ государственных академий наук по теме № 0532-2021-0009 «Разработка биологических технологий управления здоровьем животных и прижизненного формирования качества продукции животноводства и птицеводства».

Экспериментальные исследования проводили на базе племенного завода, расположенного в Камышловском районе Свердловской области, на высокопродуктивных коровах с продуктивностью более 8000 кг. Автоматизированная система добровольного доения VMS™ V300 компании DeLaval была внедрена в сентябре 2020 г. на группе из 61 коровы. За исследуемый период, в среднем 4,9 месяца (*min* – 1 месяц, *max* – 7 месяцев), проанализировано 10 300 доек, при этом учитывали такие показатели, как надои, продолжительность доения, интервал между доением, электропроводность молока, индекс MDi. Животные с индексом MDi более 1,8 были подвергнуты дополнительному исследованию на клинический и субклинический мастит. Клинические признаки мастита устанавливали при обследовании с проведением пробного сдаивания: оценивали симметричность и размеры четвертей вымени, отмечали изменения цвета кожи молочной железы и ее температуры. Особое внимание уделяли надвыменным лимфатическим узлам, оценивали наличие или отсутствия уплотнений, отмечали изменения в состоянии сфинктеров сосков и характер выдоенного секрета вымени.

Исследование на субклинический мастит проводили с помощью диагностического экспресс-теста «Кенотест» (CID LINES, Бельгия). Также в секрете молочной железы всех животных определяли количество СК с использованием анализатора молока вискозиметрического «Соматос-Мини» (ООО ВПК «СибagroПРИБОР», Россия) и анализатора DeLaval DCC (Швеция). Методика определения количества СК соответствует стандартам Российской Федерации ГОСТ 23453-2014¹.

В период исследования от животных с маститом были отобраны пробы секрета молочной железы

для дальнейшего микробиологического и ПЦР-исследования с целью установления этиологии заболевания (*n* = 8). Исследование проб проводили на приборе Rotor-Gene 3000 (Corbett Research, Австралия) в режиме реального времени методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием комплекта реагентов «Ветскрин. СТРЕПТОПОЛ-В», «Ветскрин. СТАФИПОЛ», «Ветскрин. КОЛИПОЛ», «Ветскрин. СТРЕПТОПОЛ» (ООО «ИДС», Россия). При проведении бактериологического и микологического исследования из проб секрета вымени коров делали посевы на жидкие и плотные питательные среды: мясо-пептонный бульон (МПБ), мясо-пептонный агар (МПА), среду Эндо, среду Сабуро, агар маннит-солевой, энтерококкагар, цветные среды Гисса. Выделенные изоляты идентифицировали, руководствуясь определителем бактерий Берджи и определителем патогенных и условно-патогенных грибов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За исследуемый период надой по группе в среднем составил 15,03 кг (*min* – 4,50 кг, *max* – 24,52 кг). Средняя продолжительность доения по группе – 8 мин 14 сек, при этом минимальный показатель был 5 мин 24 сек, а максимальный – 12 мин 29 сек. Усредненное значение времени доения животных составило 5–7 мин, что соответствует физиологическим параметрам рефлекса молокоотдачи и находится в нормативных пределах требований машинного доения коров. Установлено, что 67,2% коров выдаивалось в течение 4–7 мин, а средняя продолжительность доения более 8 мин наблюдалась у 32,7% животных (рис. 1).

Средний интервал между доениями в исследуемой группе животных составил 11 ч 30 мин с распределением от минимального (6 ч 04 мин) до максимального (18 ч 54 мин) значений. При этом у 31,2% коров за весь исследуемый период максимальный интервал между доениями один раз и более был от 20 ч 11 мин до 24 ч 00 мин (рис. 2).

Ранее проведенными нами исследованиями установлено, что электропроводность молока у здоровых животных находилась на уровне 3,5–4,5 1/Омхсм³, у животных с субклиническим и клиническим маститом – 4,5–6,0 и 6,1–7,0 1/Омхсм³ соответственно [26].

Доение коров с использованием автоматизированной системы добровольного доения VMS™ V300 позволяет получать данные по электропроводности молока с каждой четверти молочной железы. Общий анализ за исследуемый период показал, что средняя электропроводность молока по всей группе животных составила 4,14 1/Омхсм³, при этом у 16,4% коров электропроводность находилась на уровне 4,5–6,0 1/Омхсм³. Если рассматривать индивидуально каждое животное, то за весь период исследований отмечено, что в левой передней четверти вымени у 23,0% коров средняя электропроводность молока имела значение 4,50–5,23 1/Омхсм³, у 4,92% животных данный показатель был более 7,11 1/Омхсм³; электропроводность молока из правой передней четверти у 13,1% коров имела значение от 4,52 до 5,05 1/Омхсм³, а у 8,2% животных – 6,24–9,39 1/Омхсм³. Аналогичный анализ по левой задней четверти молочной железы показал, что электропроводность молока в пределах 4,54–5,20 и 6,06–9,14 1/Омхсм³ установлена у одинакового количества животных (13,1%). Повышение показателя электропроводности молока в правой задней четверти вымени

¹ ГОСТ 23453-2014 Молоко сырое. Методы определения соматических клеток. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200115756>.

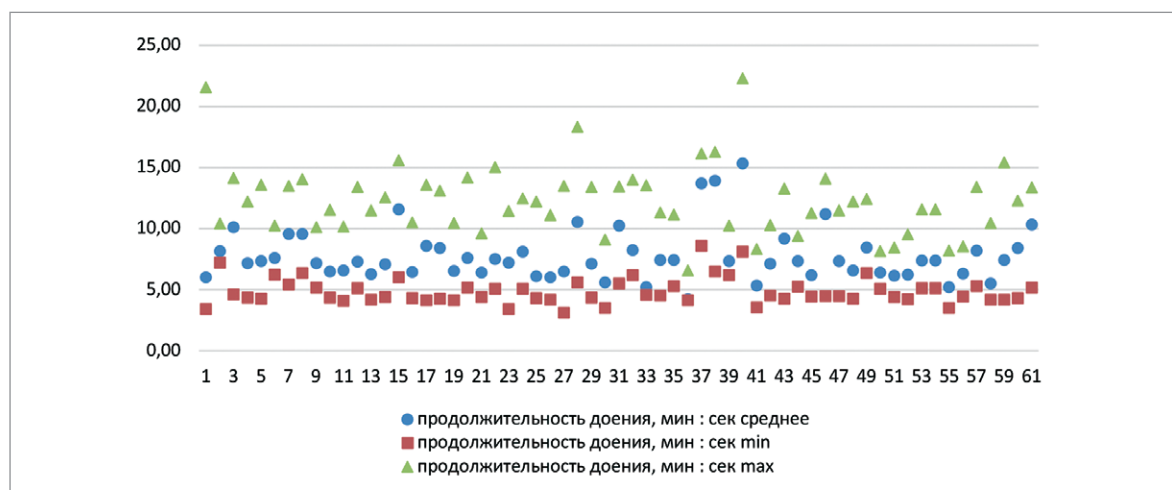


Рис. 1. Распределение продолжительности доения коров на роботизированной установке

Fig. 1. Distribution of the time of cow milking with robotic milking system

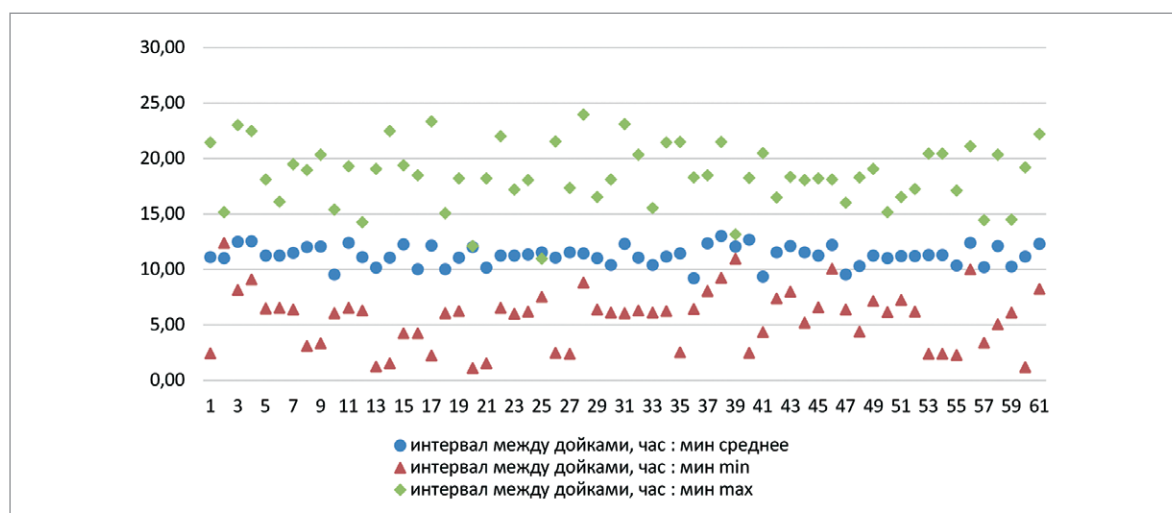


Рис. 2. Распределение интервала между доениями коров на роботизированной установке

Fig. 2 Distribution of the interval between cow milkings with robotic milking system

от 4,51 до 5,73 1/Омхсм³ и от 6,22 до 7,93 1/Омхсм³ наблюдалось у 21,31 и 4,92% животных соответственно.

За семь месяцев исследования и 10 300 доений средний показатель MDi составил 1,16 с диапазоном от 1,03 до 1,41. Минимальное и максимальное значение MDi было равно 1,0 и 11,1 соответственно (рис. 3). При этом величину индекса MDi от 1,8 до 2,2 наблюдали у 50,8% высокопродуктивных коров, у 26,2% животных регистрировали единичное повышение. В связи с этим диагностическое значение увеличения индекса MDi в пределах 1,8–2,2 имело место у 24,6% коров. Повышение индекса выявления мастита более 2,2 зарегистрировано у 36,1% животных, при этом 14,8% коров имели повышение MDi в период от одной до четырех доек, и в дальнейшем у них не выявлено взаимосвязи с маститом, в результате чего достоверным считается увеличение MDi более 2,2 у 21,3% высокопродуктивных коров. Повышение значения MDi от 1,8 до 2,2 и более 2,2 максимально наблюдалось на протяжении 38 и 19 доек соответственно.

Всех животных с зарегистрированным на протяжении более четырех доек уровнем MDi 1,8–2,2 и более 2,2 (15 и 13 коров соответственно) исследовали

на наличие клинической и субклинической форм мастита. Из 28 коров мастит был выявлен у 28,6% животных, при этом клиническое и скрытое воспаление имели 7,1 и 21,4% особей соответственно. Выявили, что клинический мастит у коров диагностируется в случае, если индекс MDi превышает 2,2 на протяжении от 13 до 18 доений. Субклинический мастит был обнаружен у животных с индексом MDi от 1,8 до 2,2 в процессе 17–28 циклов доения. У коров, имеющих уровень MDi менее 1,8, признаков мастита не наблюдали на протяжении всего периода исследований. Устанавливая взаимосвязь между индексом MDi и диагностируемым маститом, выявлена положительная корреляция, коэффициент которой составил $r = 0,78$.

Исследование секрета молочной железы показало, что у 45,9 и 37,7% животных среднее количество СК за исследуемый период находилось в диапазоне до 200 и 201–300 тыс/мл соответственно, что свидетельствует об отсутствии патологических процессов в молочной железе. При этом данные животные имели индекс выявления мастита до 1,8. В секрете вымени 4,9% коров содержалось 301–400 тыс/мл СК, индекс MDi составлял 1,8–2,0, а клиническое исследование животных

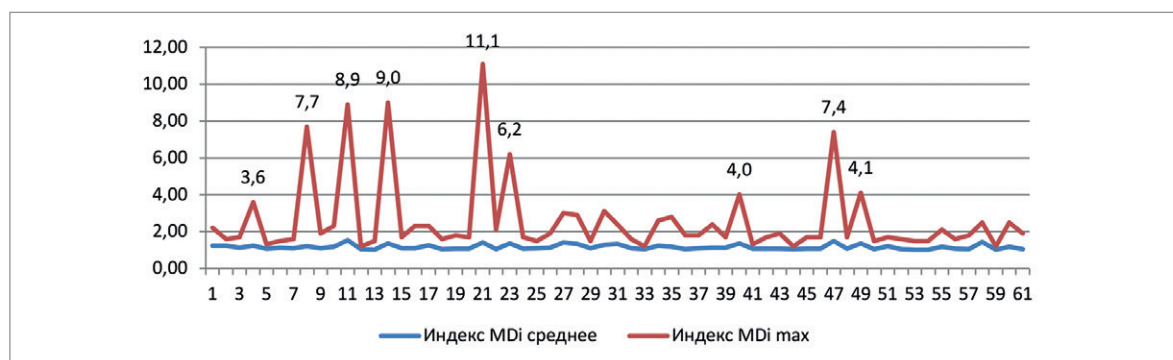


Рис. 3. Индекс обнаружения мастита (MDi)

Fig. 3. Mastitis detection index (MDi)

показало наличие субклинического мастита у 3,6% особей. Количество СК на уровне 401–700 тыс/мл установлено у 9,8% исследуемых коров, индекс MDi у которых был в диапазоне 2,0–2,2, и все животные имели воспалительные процессы в молочной железе, при этом клиническая и субклиническая формы выявлены у 7,1 и 14,3% особей соответственно. Свыше 701 тыс/мл СК в молоке выявлено у одной коровы, что составляет 1,6% от всех исследованных животных, индекс MDi составил более 2,2, а при клиническом обследовании установлен клинический мастит (3,6%). Результаты исследования представлены в таблице.

При проведении ПЦР-исследования из образцов секрета молочной железы больных маститом коров было выделено 14 бактериальных изолятов. Этиологический спектр возбудителей контагиозных маститов в 100% проб представлен *Staphylococcus* spp. (*St. epidermidis*, *St. saprophyticus*, *St. haemolyticus*), в 25,0 и 12,5% – *Streptococcus agalactiae* и *Staphylococcus aureus* соответственно. В 37,5% проб выделена *Escherichia coli*, приводящая к развитию колиформного мастита у коров.

Микробиологические исследования проб секрета молочной железы от животных с подтвержденным диагнозом «мастит» показали наличие в 100% проб микроорганизма внешней среды *Enterococcus faecium*. В 62,5 и 37,5% проб обнаружены *Escherichia coli* и *Staphylococcus epidermidis* соответственно. *Staphylococcus aureus* выделен в 12,5% проб.

Таким образом, микробиологические и ПЦР-исследования являются методами определения этиологии мастита, дополняющими друг друга и позволяющими определить более широкий спектр возбудителей и подобрать эффективную терапию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для обнаружения той или иной формы мастита, назначения лечения и прогнозирования течения заболевания необходимо использовать все имеющиеся инструменты диагностики (клинический осмотр, применение экспресс-теста, подсчет количества СК, анализ данных электропроводности молока, микробиологические и ПЦР-исследования). Результаты исследования показали, что среднее значение индекса выявления мастита варьировало от 1,03 до 1,41, при этом минимальная и максимальная величина находились на уровне 1,0 и 11,1 соответственно. Диагностическое увеличение индекса MDi в пределах 1,8–2,2 наблюдали у 24,6% животных. Достоверное повышение индекса MDi более 2,2 установлено у 21,3% высокопродуктивных коров.

Таблица

Соматические клетки в секрете молочной железы исследуемых коров (n = 61)

Table
Somatic cell counts in mammary gland secretion collected from tested cows (n = 61)

Количество СК, тыс/мл	Количество животных	
	n	%
до 200	28	45,9
201–300	23	37,7
301–400	3	4,9
401–700	6	9,8
свыше 701	1	1,6

У животных с уровнем MDi более 1,8 мастит выявлен в 28,6% случаев, при этом клиническую и субклиническую формы воспаления имели 7,1 и 21,4% особей соответственно. Исследование секрета вымени коров показало, что среднее количество СК за исследуемый период находилось в диапазоне до 200 тыс/мл у 45,9% животных; уровень СК 201–300 тыс/мл был определен у 37,7% особей, при этом индекс MDi у данных животных составил до 1,8. В секрете молочной железы 4,9% коров содержалось 301–400 тыс/мл СК, в то время индекс MDi равнялся 1,8–2,0. Количество СК на уровне 401–700 и свыше 701 тыс/мл установлен у 9,8 и 1,6% исследуемых коров соответственно, индекс MDi у этих животных был в диапазоне 2,0–2,2. Микробиологические и ПЦР-исследования проб секрета молочной железы от животных с маститом показали наличие спектра возбудителей, вызывающих контагиозный и колиформный мастит: *Staphylococcus* spp. (*St. epidermidis*, *St. saprophyticus*, *St. haemolyticus*), *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*. Расчет коэффициента корреляции между индексом MDi и диагностируемым маститом составил +0,78. Учитывая наставления, описанные в руководстве пользователя доильной системы VMS™ V300, где значения индекса MDi условно делятся на диапазоны: ниже 1,8 – «здоровое вымя», 1,8–2,2 – «необходимо обратить внимание», более 2,2 – «мастит», проведенные исследования подтверждают возможность использования данного индекса в качестве дополнительного метода диагностики мастита, позволяющего на первоначальном этапе принять своевременные меры.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Борисов Н. МАСТИТое животноводство: как лечить воспаление вымени у коров. *Эффективное животноводство*. 2021; 1 (167): 72–78. EDN: UFVEIL.
2. Шкуратова И. А., Ряпосова М. В., Шилова Е. Н., Соколова О. В., Белоусов А. И., Красноперов А. С. и др. Воспроизводство стада – основа эффективного производства молока: монография. Екатеринбург: ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН; 2020. 110 с. EDN: FRGMWL.
3. Бронзо В. Бактериальные биопленки. Роль формирования биопленок в патогенезе *Staphylococcus aureus*. *БИО*. 2018; 5 (212): 12–13. EDN: XYOUHJ.
4. Давыдова Т. Г., Дроздова Л. И. Сравнительная морфология молочной железы высокопродуктивных коров при нисходящем и восходящем маститах. *Аграрный вестник Урала*. 2011; (9): 20–22. EDN: PAPWRF.
5. Zhylykaidar A., Oryntaev K., Altenov A., Kyplybai E., Chayxmet E. Prevention of bovine mastitis through vaccination. *Archives of Razi Institute*. 2021; 76 (5): 1381–1387. DOI: 10.22092/ari.2021.356008.1764.
6. Исакова М. Н., Ряпосова М. В., Безбородова Н. А., Брицина О. А. Микробиологический фон при воспалении молочной железы у высокопродуктивных коров. *Российский журнал «Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии»*. 2017; 2 (22): 63–67. EDN: ZAHIQN.
7. Внедрение в сельское хозяйство современного автоматизированного оборудования и техники. *Стратегические задачи по научно-технологическому развитию АПК: сборник трудов конференции (8–9 февраля 2018 г.)*. Под ред. И. М. Донник, Б. А. Воронина, О. Г. Лоретц. Екатеринбург: Уральский ГАУ; 2018. 106 с. EDN: TPHOSS.
8. Rodenburg J. Robotic milking: technology, farm design, and effects on work flow. *J. Dairy Sci.* 2017; 100 (9): 7729–7738. DOI: 10.3168/jds.2016-11715.
9. Баркова А. С., Шурманова Е. И. Влияние системы добровольного роботизированного доения на состояние сосков и здоровье вымени коров. *Аграрный вестник Урала*. 2017; (3): 12–17. EDN: YPLGAD.
10. Шарипов Д. Р., Галимуллин И. Ш., Мухаметшин З. З. Технологические свойства коров при использовании системы добровольного доения. *Вестник ИРГСА*. 2017; 81/1: 49–55. EDN: ZFLVBV.
11. Донник И. М., Воронин Б. А., Лоретц О. Г., Кот Е. М., Воронина Я. В. Российский АПК – от импорта сельскохозяйственной продукции к экспортно-ориентированному развитию. *Аграрный вестник Урала*. 2017; (3): 59–66. EDN: WDMNSZ.
12. Морозова Н. И., Садиков Р. З., Жарикова О. В. Технология доения коров в системе VMS добровольного доения роботом. *Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета имени П. А. Костычева*. 2016; (4): 37–40. EDN: XWKZVD.
13. Никифоров В. Е., Никитин Л. А., Углин В. К. Условия получения качественного молока при применении автоматизированных технологий доения DeLaval. *Вестник ВНИИМЖ*. 2019; (1): 190–195. EDN: ZAIRIT.
14. Симонов Г. А., Никифоров В. Е., Иванова Д. А., Филиппова О. Б. Роботизированная технология доения коров повышает эффективность производства молока. *Наука в центральной России*. 2020; 5 (47): 74–81. DOI: 10.35887/2305-2538-2020-5-74-81.
15. Симонов Г. А., Никифоров В. Е., Сереброва И. С., Иванова Д. А., Филиппова О. Б. Влияние роботизированного доения на качество молока. *Наука в центральной России*. 2020; 2 (44): 117–124. DOI: 10.35887/2305-2538-2020-2-117-124.
16. Третьяков Е. А. Молочная продуктивность коров и качество молока при различных технологиях содержания и доения. *Молочно-хозяйственный вестник*. 2021; 4 (44): 88–102. DOI: 10.52231/2225-4269_2021_4_88.
17. Тяпугин Е. А., Тяпугин С. Е., Углин В. К., Никифоров В. Е. Особенности роботизированной технологии доения высокопродуктивных коров на современных комплексах. *Достижения науки и техники АПК*. 2015; 29 (2): 57–58. EDN: TMZGEN.
18. Филиппова Е. Е. Автоматизированное и роботизированное доение: сравнительный анализ. *Молочная промышленность*. 2020; 7: 61–63. EDN: BSWITQ.
19. Шарипов Д. Р., Галимуллин И. Ш. Особенности доения коров при эксплуатации автоматизированных систем доения «Astronaut A4». *Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана*. 2018; 236 (4): 208–212. DOI: 10.31588/2413-4201-1883-236-4-208-212.
20. Шарипов Д. Р., Якимов О. А., Галимуллин И. Ш. Особенности использования роботизированной системы доения в молочном скотоводстве. *Техника и технологии в животноводстве*. 2021; (3): 17–21. DOI: 10.51794/27132064-2021-3-17.
21. Hogenboom J. A., Pellegrino L., Sandrucci A., Rosi V., D'Incecco P. Invited review: Hygienic quality, composition, and technological performance of raw milk obtained by robotic milking of cows. *J. Dairy Sci.* 2019; 102 (9): 7640–7654. DOI: 10.3168/jds.2018-16013.
22. Lusi I., Antane V., Laurs A. Effectiveness of mastitis detection index for cow monitoring and abnormal milk detection in milking robots. In: *16th International Scientific Conference Engineering for Rural Development (Jelgava, May 24–26, 2017)*. 2017; 1383–1387. DOI: 10.22616/ERDev2017.16.N314.
23. Denis-Robichaud J., Cerri R. L. A., Jones-Bitton A., LeBlanc S. J. Survey of reproduction management on Canadian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 2016; 99 (11): 9339–9351. DOI: 10.3168/jds.2016-11445.
24. John A. J., Freeman M. J., Kerrisk K. F., Garcia S. C., Clark C. E. F. Robot utilisation of pasture-based dairy cows with varying levels of milking frequency. *Animal*. 2019; 13 (7): 1529–1535. DOI: 10.1017/S1751731118003117.
25. Penry J. F., Crump P. M., Hernandez L. L., Reinemann D. J. Association of milking interval and milk production rate in an automatic milking system. *J. Dairy Sci.* 2018; 101 (2): 1616–1625. DOI: 10.3168/jds.2016-12196.
26. Исакова М. Н., Лиходеевская О. Е., Бюллер А. В., Двинина Л. Д. Оценка состояния здоровья молочной железы коров по показателям качества молока. *Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии*. 2018; (4): 122–125. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2018.4.122.

REFERENCES

1. Borisov N. MASTIToe zhitovnovodstvo: kak lechit' vospalenie ymeni u korov = Mastitis in animal industry; how to treat udder inflammation in cows. *Effektivnoe zhitovnovodstvo*. 2021; 1 (167): 72–78. EDN: UFVEIL. (in Russ.)
2. Shkuratova I. A., Ryaposova M. V., Shilova E. N., Sokolova O. V., Belousov A. I., Krasnoperov A. S., et al. Herd reproduction is the basis for efficient milk production. *Ekaterinburg: FSBSI UrFASRC, UrB of RAS*; 2020. 110 p. EDN: FRGMWL. (in Russ.)
3. Bronzo V. Bakterial'nye bioplenki. Rol' formirovaniya bioplenok v patogeneze *Staphylococcus aureus* = Bacterial biofilms. Role of biofilm development in *Staphylococcus aureus* pathogenesis. *BIO*. 2018; 5 (212): 12–13. EDN: XYOUHJ. (in Russ.)
4. Davydova T. G., Drozdova L. I. The comparative morphology of the dairy gland of highly productive cows under descending and ascending mastitis. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2011; (9): 20–22. EDN: PAPWRF. (in Russ.)
5. Zhylykaidar A., Oryntaev K., Altenov A., Kyplybai E., Chayxmet E. Prevention of bovine mastitis through vaccination. *Archives of Razi Institute*. 2021; 76 (5): 1381–1387. DOI: 10.22092/ari.2021.356008.1764.
6. Isakova M. N., Riaposova M. V., Bezborodova N. A., Britsina O. A. Microbiological background with inflammation of breast of high-productive cows. *Russian Journal "Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology"*. 2017; 2 (22): 63–67. EDN: ZAHIQN. (in Russ.)
7. Vnedrenie v sel'skoe khozaystvo sovremennogo avtomatizirovannogo oborudovaniya i tekhniki = Putting modern automated equipment and technologies in agricultural practice. *Strategicheskie zadachi po nauchno-tekhnologicheskomu razvitiyu APK: sbornik trudov konferentsii (8–9 fevralya 2018 g.)* = Strategic tasks for the scientific and technological development of the agro-industrial complex: Conference Proceedings (8–9 February, 2018). Ed. by I. M. Donnik, B. A. Voronin, O. G. Lorets. *Ekaterinburg: Ural SAU*; 2018. 106 p. EDN: TPHOSS. (in Russ.)
8. Rodenburg J. Robotic milking: technology, farm design, and effects on work flow. *J. Dairy Sci.* 2017; 100 (9): 7729–7738. DOI: 10.3168/jds.2016-11715.
9. Barkova A. S., Shurmanova E. I. Influence of system of voluntary robotic milking on the condition of teats and health of the udder of cows. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2017; (3): 12–17. EDN: YPLGAD. (in Russ.)
10. Sharipov D. R., Galimullin I. Sh., Mukhametshin Z. Z. Technological properties of cows under a system of voluntary milking. *Vestnik IrgSHA*. 2017; 81/1: 49–55. EDN: ZFLVBV. (in Russ.)
11. Donnik I. M., Voronin B. A., Lorets O. G., Kot E. M., Voronina Ya. V. Russian agrarian and industrial complex – from import of agricultural production to the export-oriented development. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2017; (3): 59–66. EDN: WDMNSZ. (in Russ.)
12. Morozova N. I., Sadikov R. Z., Zharkikova O. V. The technology of milking conditions at DeLaval voluntary milking robot. *Herald of Ryazan State Agrotechnological University Named after P. A. Kostychev*. 2016; (4): 37–40. EDN: XWKZVD. (in Russ.)
13. Nikiforov V. E., Nikitin L. A., Uglin V. K. The high-quality milk obtaining conditions at DeLaval milking automated technologies using. *Journal of VNIIMZh*. 2019; (1): 190–195. EDN: ZAIRIT. (in Russ.)
14. Simonov G. A., Nikiforov V. E., Ivanova D. A., Filippova O. B. Robotic technology milking the cows increases the efficiency of milk production. *Science in the Central Russia*. 2020; 5 (47): 74–81. DOI: 10.35887/2305-2538-2020-5-74-81. (in Russ.)
15. Simonov G. A., Nikiforov V. E., Serebrova I. S., Ivanova D. A., Filippova O. B. Influence of robotized milking on quality of cow milk. *Science in the Central Russia*. 2020; 2 (44): 117–124. DOI: 10.35887/2305-2538-2020-2-117-124. (in Russ.)

16. Tret'yakov E. A. Dairy productivity of cows and milk quality with various technologies of keeping and milking. *Dairy Farming Journal*. 2021; 4 (44): 88–102. DOI: 10.52231/2225-4269_2021_4_88. (in Russ.)
17. Tyapugin E. A., Tyapugin S. E., Uglin V. K., Nikiforov V. E. Special features of robotic technology of milking of highly productive cows in modern complexes. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2015; 29 (2): 57–58. EDN: TMZGEN. (in Russ.)
18. Filippova E. E. Automated and robotic milking: comparative analysis. *Dairy Industry*. 2020; 7: 61–63. EDN: BSWITQ. (in Russ.)
19. Sharipov D. R., Galimullin I. Sh. Special features of milking cows in the exploitation of automatic milking system "Astronaut A4". *Scientific notes Kazan Bauman State Academy of Veterinary Medicine*. 2018; 236 (4): 208–212. DOI: 10.31588/2413-4201-1883-236-4-208-212. (in Russ.)
20. Sharipov D. R., Yakimov O. A., Galimullin I. Sh. Features of robotic milking system at dairy cattle breeding using. *Machinery and technologies in livestock*. 2021; (3): 17–21. DOI: 10.51794/27132064-2021-3-17. (in Russ.)
21. Hogenboom J. A., Pellegrino L., Sandrucci A., Rosi V., D'Incecco P. Invited review: Hygienic quality, composition, and technological performance of raw milk obtained by robotic milking of cows. *J. Dairy Sci*. 2019; 102 (9): 7640–7654. DOI: 10.3168/jds.2018-16013.
22. Lusi I., Antane V., Laurs A. Effectiveness of mastitis detection index for cow monitoring and abnormal milk detection in milking robots. In: *16th International Scientific Conference Engineering for Rural Development (Jelgava, May 24–26, 2017)*. 2017; 1383–1387. DOI: 10.22616/ERDev2017.16.N314.
23. Denis-Robichaud J., Cerri R. L. A., Jones-Bitton A., LeBlanc S. J. Survey of reproduction management on Canadian dairy farms. *J. Dairy Sci*. 2016; 99 (11): 9339–9351. DOI: 10.3168/jds.2016-11445.
24. John A. J., Freeman M. J., Kerrisk K. F., Garcia S. C., Clark C. E. F. Robot utilisation of pasture-based dairy cows with varying levels of milking frequency. *Animal*. 2019; 13 (7): 1529–1535. DOI: 10.1017/S1751731118003117.
25. Penry J. F., Crump P. M., Hernandez L. L., Reinemann D. J. Association of milking interval and milk production rate in an automatic milking system. *J. Dairy Sci*. 2018; 101 (2): 1616–1625. DOI: 10.3168/jds.2016-12196.
26. Isakova M. N., Likhodeevskaya O. E., Bueller A. V., Dvinina L. D. Assessment of the condition of health of the mammary gland of cows by indicators of milk quality. *Legal regulation in veterinary medicine*. 2018; (4): 122–125. DOI: 10.17238/issn2072-6023.2018.4.122. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 21.02.2023

Поступила после рецензирования / Revised 13.03.2023

Принята к публикации / Accepted 28.04.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Исакова Мария Николаевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела репродуктивной биологии и неонатологии ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7130-5627>, e-mail: tmarya105@yandex.ru.

Ряпосова Марина Витальевна, доктор биологических наук, доцент, заместитель директора по научной работе ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5699-3924>, e-mail: riaposova76@mail.ru.

Mariya N. Isakova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Department of Reproductive Biology and Neonatology, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7130-5627>, e-mail: tmarya105@yandex.ru.

Marina V. Ryaposova, Doctor of Science (Biology), Associate Professor, Deputy Director for Science, FSBSI UrFASRC, UrB of RAS, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5699-3924>, e-mail: riaposova76@mail.ru.



Клинические признаки и патоморфологические изменения при артрите-энцефалите коз

В. Ю. Коптев, Н. А. Шкиль, Н. Ю. Бальбина, И. Н. Пенкова

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

РЕЗЮМЕ

Последнее десятилетие на территории Российской Федерации наблюдается резкое увеличение поголовья мелкого рогатого скота, в частности коз, содержащихся в личных подсобных и крестьянских фермерских хозяйствах. При этом все чаще ветеринарные специалисты начали сталкиваться с клиническими признаками заболеваний, ранее не регистрировавшихся в нашей стране либо встречавшихся в виде спорадических случаев. Одним из них является вирусный артрит-энцефалит коз – хроническое инфекционное заболевание, вызываемое лентивирусом мелких жвачных животных семейства *Retroviridae*, включающим в себя четыре генотипа, два из которых имеют эпизоотическое значение: генотип А (вирус маеди-висна – MVV) и генотип В (вирус артрита-энцефалита коз – CAEV). Артрит-энцефалит коз характеризуется длительным бессимптомным вирусоносительством с последующим развитием клинических признаков поражения органов дыхания, суставов конечностей и вымени, а также нервными явлениями у козлят 2–3-месячного возраста. Клинические признаки артрита-энцефалита коз не являются патогномоничными, вследствие чего ветеринарные специалисты, сталкиваясь с данной симптоматикой, часто ставят ложные диагнозы, что приводит к низкой эффективности терапевтических мероприятий. Учитывая вышеуказанный факт, вопрос прижизненной и посмертной диагностики артрита-энцефалита коз до сих пор остается актуальным, так как большинство ветеринарных специалистов никогда не сталкивались с данным заболеванием, а имеющиеся в литературе данные часто недостаточно подробно освещают все нюансы клинической и патоморфологической картины данной патологии. Исходя из этого, целью работы было изучить клинические признаки и патоморфологические изменения при вирусном артрите-энцефалите коз. В статье подробно рассматриваются клинические проявления данного заболевания, описаны патолого-анатомические изменения в органах и тканях больных животных. Полученные результаты указывают на необратимость деструктивных изменений в пораженных органах и, как следствие, на отсутствие эффективных способов терапии.

Ключевые слова: артрит-энцефалит коз, лентивирус, пневмония, патоморфологическая картина, мелкий рогатый скот

Для цитирования: Коптев В. Ю., Шкиль Н. А., Бальбина Н. Ю., Пенкова И. Н. Клинические признаки и патоморфологические изменения при артрите-энцефалите коз. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 126–132. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-126-132.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Коптев Вячеслав Юрьевич, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории болезней молодняка ИЭВСиДВ СФНЦА РАН, 630501, Россия, Новосибирская обл., р. п. Краснообск, а/я 8, e-mail: kastrolog@mail.ru.

Clinical signs of caprine arthritis-encephalitis and disease-related pathomorphological changes

V. Yu. Koptev, N. A. Shkil, N. Yu. Balybina, I. N. Penkova

Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences (SFSCA RAS), Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia

SUMMARY

Over the past ten years, the small ruminant population in the Russian Federation grew sharply, especially goat population in backyards and on small-scale farms. Alongside with the population growth, clinical signs of some sporadic diseases or diseases that had not been previously registered were detected in animals. Caprine arthritis-encephalitis (CAE) is one of such diseases. It is a chronic infectious disease caused by a small ruminant lentivirus (SRLV) of the *Retroviridae* family, which includes four genotypes, of which genotypes A (maedi-visna – MVV virus) and B (caprine arthritis-encephalitis virus – CAEV) are of epizootic significance. The disease is characterized by long asymptomatic viral transmission and is associated with progressive lesions in the respiratory organs, joints and udder. The disease also affects nervous system in kid goats aged between 2 and 3 months. Clinical signs of caprine arthritis-encephalitis are not pathognomonic; therefore, it is often misdiagnosed, thus, resulting in a barrier to effective treatment. Given the fact, the issue of antemortem and postmortem diagnosis of caprine arthritis-encephalitis is still urgent, because most veterinary specialists have never encountered this disease and the data available in the literature often do not fully cover all clinical details and pathomorphological features. Therefore, the purpose of the work is to study CAE clinical signs and pathomorphological changes. The article describes in detail clinical manifestation of this disease, postmortem lesions in organs and tissues of the sick animals. The results obtained suggest that the destructive changes in the exposed organs are irreversible and, consequently, there is no effective treatment.

Keywords: caprine arthritis-encephalitis, lentivirus, pneumonia, pathomorphological features, small ruminants

For citation: Koptev V. Yu., Shkil N. A., Balybina N. Yu., Penkova I. N. Clinical signs of caprine arthritis-encephalitis and disease-related pathomorphological changes. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 126–132. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-126-132.

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

For correspondence: Vyacheslav Yu. Koptev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Diseases of Young Animals, Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and the Far East SFSCA RAS, 630501, Russia, Novosibirsk Oblast, Krasnoobsk, p/o box 8, e-mail: kastrolog@mail.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Резкое увеличение поголовья коз в Российской Федерации, вызванное неприхотливостью и относительной дешевизной содержания данных животных в личных подсобных хозяйствах, заставило ветеринаров столкнуться с клиническими проявлениями заболеваний, ранее либо не регистрировавшихся на территории страны, либо встречавшихся в виде спорадических случаев. Связано это в первую очередь с тем, что до недавнего времени ввоз животных из стран ближнего и дальнего зарубежья, а также их перемещение между регионами Российской Федерации часто происходило без ветеринарного контроля, что являлось следствием несовершенства законодательной базы и откровенной халатностью ряда козоводов.

Сложившаяся ситуация привела к тому, что ветеринарные специалисты, работающие с мелким рогатым скотом, в частности с козами, все чаще сталкиваются со случаями поражений органов дыхания, опорно-двигательного аппарата, а также маститами, не поддающимися стандартным методам терапии. У потомства, полученного от животных с подобными клиническими признаками, можно наблюдать развитие признаков поражения нервной системы, в частности нарушение координации и запрокидывание головы. Совокупность данных клинических признаков в большинстве случаев является картиной вирусного артрита-энцефалита коз.

Артрит-энцефалит коз (АЭК, CAE – caprine arthritis-encephalitis) – хроническое инфекционное заболевание коз, вызываемое лентивирусом мелких жвачных животных семейства *Retroviridae*, включающим в себя четыре генотипа. Из них генотипы А (вирус маеди-висна, MVV) и В (вирус артрита-энцефалита коз, CAEV) имеют эпизоотическое значение [1, 2]. Вирус может легко преодолевать межвидовые барьеры между овцами и козами, вызывая сходный по клиническим проявлениям патологический процесс [3–8]. Болезнь характеризуется длительным бессимптомным вирусоносительством с последующим развитием признаков поражения органов дыхания, суставов конечностей и вымени, а также центральной нервной системы [9]. При этом считается, что лентивирус генотипа А вызывает патологии органов дыхания, в то время как при инфицировании генотипом В у животных развивается симптомокомплекс поражения опорно-двигательного аппарата.

Заболевание встречается во всех странах с развитым козоводством, включая Россию [10–12].

Клинические признаки АЭК не являются патогномоничными, поэтому, сталкиваясь с данной симптоматикой, ветеринарные специалисты часто ставят ложные диагнозы, что приводит к низкой эффективности терапевтических мероприятий.

В настоящее время достоверный диагноз на АЭК можно поставить только серологическими и молекулярно-биологическими методами, включающими

в себя иммуноферментный анализ (ИФА) сыворотки крови на наличие антител к вирусу АЭК либо полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в режиме реального времени для выявления провирусной ДНК в образцах патологического материала от животных [13–15].

Средств специфической профилактики и терапии артрита-энцефалита коз не разработано. Профилактические мероприятия сводятся в основном к технологическим методам, включающим в себя раздельное содержание серопозитивных и серонегативных животных, стерильные роды и ранний отъем козлят от матерей с последующим выкармливанием пастеризованным молоком или заменителем цельного молока [16, 17]. Также одним из основных звеньев профилактических мероприятий является регулярное проведение серологического мониторинга стада на наличие серопозитивных животных и их выбраковка [18, 19].

Осложняет ситуацию тот факт, что до сих пор на уровне Министерства сельского хозяйства Российской Федерации не разработаны нормативные акты, регламентирующие проведение профилактических мероприятий на местах, что в случае выявления серопозитивных животных приводит либо к отсутствию какой-либо реакции со стороны государственной ветеринарной службы, либо вызывает с ее стороны проведение поспешных, часто противозаконных действий, направленных на скорейшее уничтожение больных животных.

Несмотря на многообразие публикаций, вопрос прижизненной и посмертной диагностики АЭК до сих пор является актуальным, так как большинство ветеринарных специалистов никогда не сталкивались с данным заболеванием, а имеющиеся в литературе данные часто недостаточно подробно освещают все нюансы клинической и патоморфологической картины данной патологии [20–22].

Исходя из этого, целью работы было изучение клинических признаков и патоморфологических изменений при вирусном артрите-энцефалите коз.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Прижизненную диагностику АЭК осуществляли на основе анализа данных анамнеза, клинического осмотра животных и результатов серологических исследований.

Для отбора проб крови использовали вакуумные пробирки Bodaywin (Китай) с активатором свертывания и ЭДТА.

Наличие антител в сыворотке крови устанавливали с использованием наборов для постановки непрямого ИФА ID Screen® MVV/CAEV Indirect Screening Test (IDVet, Франция) и CAEV/MVV Antibody Test Kit (IDEXX B.V., Нидерланды). Результаты считывали с применением полуавтоматического планшетного иммуноферментного анализатора Infinite® F50 (TECAN, Австрия).



Рис. 1. Клинические проявления поражения центральной нервной системы у 2-месячного козленка, больного АЭК

Fig. 1. Clinical manifestations of central nervous system lesions in a 2-month-old CAE infected kid goat



Рис. 2. Увеличение запястных суставов у козла (5 лет), больного АЭК

Fig. 2. Enlargement of carpal joints in a CAE-infected goat (5 years old)

Детекцию вируса АЭК в пробе крови проводили с помощью набора реагентов «РеалБест-Вет ДНК CAEV (вирус артрита-энцефалита коз)» (АО «Вектор-Бест», Россия) на регистрирующем амплификаторе производства Bio-Rad (США).

Вскрытие животных осуществляли общепринятым методом Г. В. Шора [23]. Патологический материал для гистологических исследований фиксировали в 10%-м растворе формалина. Окраску гистологических препаратов осуществляли гематоксилином и эозином по общепринятой методике.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Описание клинических проявлений и анатомо-морфологических изменений при артрите-энцефалите коз провели на примере двух разновозрастных животных, принадлежавших владельцам личных подсобных хозяйств.

Пример 1. Козленок – метис, возраст 2 месяца. При сборе анамнеза установили, что в 1,5-месячном возрасте у животного начали наблюдаться поражения центральной нервной системы в виде запрокидывания головы – «вертячки». С течением времени владельцами было отмечено ухудшение клинического состояния животного.

При наружном осмотре у козленка фиксировали постоянный наклон головы вправо. Животное перемещалось кругами, периодически терялось в пространстве. Координация была нарушена, прием пищи затруднен (рис. 1).

Для подтверждения предварительного диагноза «артрит-энцефалит коз» у козы-матери было произведено взятие пробы крови для получения сыворотки и исследования ее на наличие антител к возбудителю данного заболевания в ИФА. Результаты анализа показали присутствие антител к вирусу АЭК с S/P% – 603% (положительный результат в соответствии с инструкцией к набору: S/P% $\geq$ 60%).

Так как козленок с рождения выпаивался молоком матери, в сыворотке крови, полученной от него, могли присутствовать колостральные антитела к вирусу АЭК. Поэтому для исключения ложноположительного результата ИФА у него взяли пробу крови для ПЦР-исследования, при проведении которого было установлено наличие провирусной ДНК вируса АЭК.

Анализ клинических признаков и результаты лабораторной диагностики позволили поставить окончательный диагноз «артрит-энцефалит коз». Владелец животных было принято решение о выбраковке и утилизации козленка и козы-матери.

Пример 2. Козел нубийской породы, 5 лет. Был приобретен в возрасте 2 мес. При сборе анамнеза установлено, что в 3-летнем возрасте животное стало малоподвижно, начало прихрамывать, отказывалось от вязки.

При клиническом осмотре было отмечено увеличение запястных и запястных суставов. Животное передвигалось с трудом, наблюдалась хромота опирающихся конечностей (рис. 2). Пораженные суставы были плотными, безболезненными при пальпации.

Для подтверждения предварительного диагноза на артрит-энцефалит коз после осмотра было произведено взятие пробы крови у козла. При проведении ИФА-исследования на наличие в сыворотке антител к вирусу АЭК показатель S/P% составил 592% (положительный результат в соответствии с инструкцией к набору: S/P% $\geq$ 60%), что позволило поставить животному окончательный диагноз «артрит-энцефалит коз».

В течение последующего года клиническое состояние козла заметно ухудшалось. Животное практически перестало передвигаться, появились симптомы поражения органов дыхания: хрипы, одышка.

После вынужденного убоя было произведено вскрытие и отбор патологического материала для гистологических исследований: пробы из разных отделов головного мозга, продолговатый мозг, мозговые оболочки, легкое, суставная сумка, поверхность суставного хряща пораженного сустава.

По результатам аутопсии и последующего гистологического исследования были получены следующие результаты.

Центральная нервная система. Твердая мозговая оболочка видимых изменений не имеет. Сосуды головного мозга инъецированы, заметно наличие точечных кровоизлияний. Извилины сглажены (рис. 3).

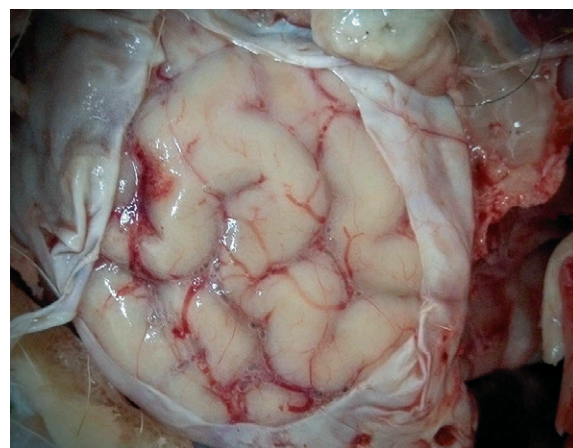


Рис. 3. Головной мозг козла, больного АЭК

Fig. 3. Brain of a CAE-infected goat

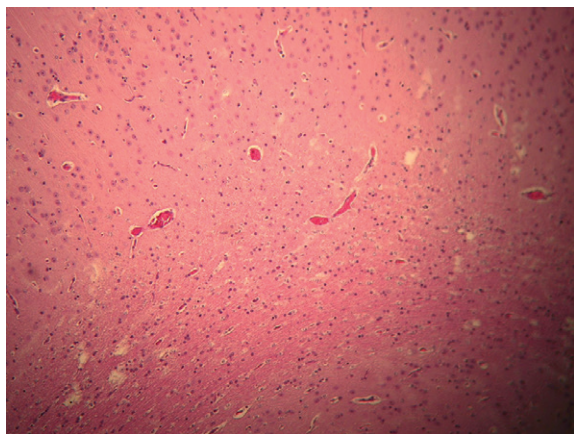


Рис. 4. Кора головного мозга козла, больного АЭК. Гистосрез. Гемостаз. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 100х)

Fig. 4. Brain cortex of a CAE-infected goat. Histological section. Hemostasis. Hematoxylin and eosin stain (magnification 100x)

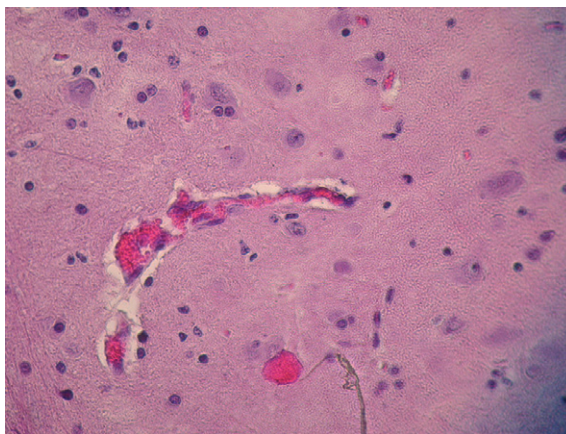


Рис. 5. Мозжечок козла, больного АЭК. Гистосрез. Гемостаз. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 400х)

Fig. 5. Cerebellum of a CAE-infected goat. Histological section. Hemostasis. Histological stains: hematoxylin and eosin (magnification 400x)

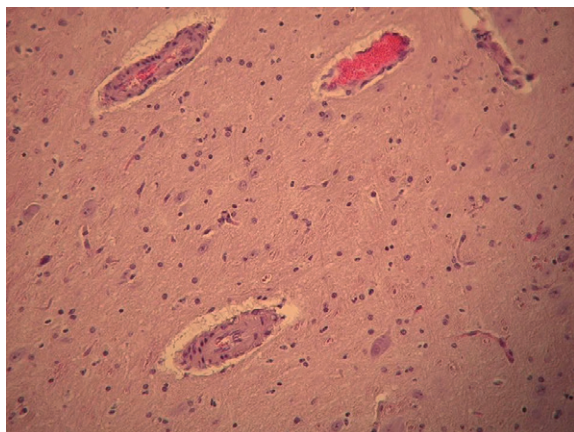


Рис. 6. Продолговатый мозг козла, больного АЭК. Гистосрез. Периваскулярный отек, гемостаз, скопление мононуклеаров. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 100х)

Fig. 6. Medulla oblongata of a CAE-infected goat. Histological section. Perivascular edema, hemostasis, mononuclear clusters. Hematoxylin and eosin stain (magnification 100x)

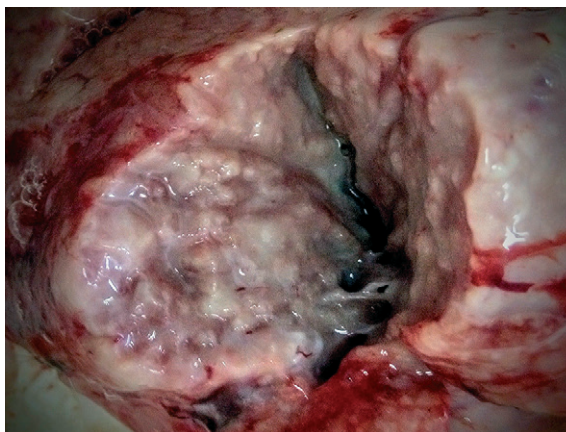


Рис. 7. Легкое козла, больного АЭК

Fig. 7. Lung of a CAE-infected goat

Анализ гистологической картины коры больших полушарий, продолговатого мозга и мозжечка выявил сходные патоморфологические изменения: гиперемию, перичеллюлярный и периваскулярный отек мозговой ткани, скопления мононуклеаров (лимфоцитов и моноцитов) вокруг кровеносных сосудов – периваскулярные клеточные муфты, а также рассеянные очажки клеточных скоплений (рис. 4–6).

Органы дыхания. Легкие увеличены, безвоздушные. Края закругленные, поверхность бугристая. На висцеральной плевре наблюдается фибриновый выпот, присутствуют локальные кровоизлияния. Заметны обширные участки фиброза (рис. 7).

На разрезе архитектоника легкого нарушена. Паренхима плотная, «каучуковой» консистенции, крупнодольчатого строения с зонами локальных кровоизлияний и обширными участками фиброза.

При гистологическом исследовании образца легочной ткани выявлены признаки воспаления, просветы

альвеол заполнены экссудатом – сетчатыми массами фибрина и лейкоцитами. На некоторых участках среза экссудат неплотно прилегает к стенкам альвеол – заметны щелевидные просветы. В межальвеолярных перегородках воспаление не выражено, наблюдается гиперемия сосудов, стаз и отек стромы. В просвете части мелких сосудов визуализируются тромбы. Совокупность морфологических изменений, отмеченных на микропрепарате, указывает на наличие у животного признаков крупозной пневмонии (рис. 8, 9).

Запястный сустав. Запястный сустав увеличен в размере в 1,5–2 раза. Капсула сустава отечна, с участками точечных кровоизлияний. При вскрытии в суставной полости отмечено наличие большого количества сгустков крови (рис. 10).

Синовиальная оболочка рыхлая, пропитана кровью. Поверхность суставного хряща лучевой кости и костей пясти желтоватого цвета, матовая, с участками дегенеративных изменений.

Анализ гистологической картины выявил «мохристость» поверхности суставной капсулы больного животного, что свидетельствует о дегенеративном изменении и разрушении поверхности сустава вследствие артрита (рис. 11, 12).

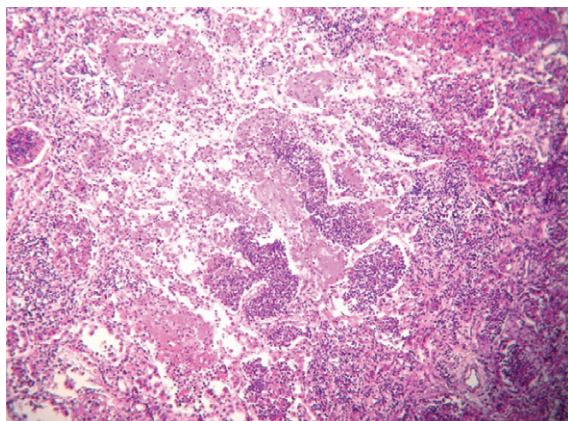


Рис. 8. Легкое козла, больного АЭК. Гистосрез. Крупозная пневмония. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 100х)

Fig. 8. Lung of a CAE-infected goat. Histological section. Croupous pneumonia. Hematoxylin and eosin stain (magnification 100x)

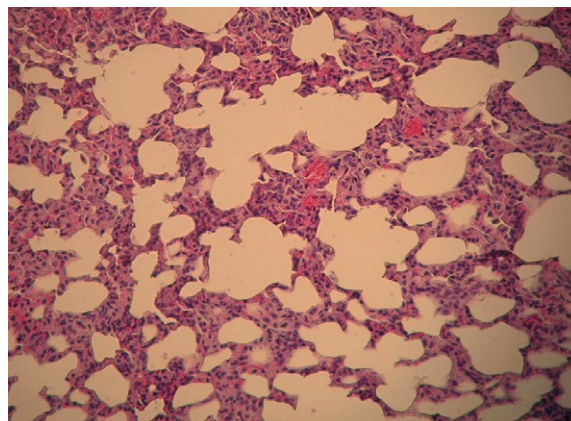


Рис. 9. Легкое козла, больного АЭК. Гистосрез. Крупозная пневмония. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 400х)

Fig. 9. Lung of a CAE-infected goat. Histological section. Croupous pneumonia. Histological stains: hematoxylin and eosin (magnification 400x)

Полученные данные указывают на то, что морфологические изменения пораженных тканей при вирусном артрите-энцефалите коз носят необратимый характер, что может служить основанием для выбраковки и убоя животного без проведения поддерживающих терапевтических мероприятий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Артрит-энцефалит коз – хроническое вирусное заболевание, характеризующееся длительным бессимптомным носительством и распространенное во всех странах мира с развитым козоводством. Основными клиническими признаками АЭК являются артриты запястных и плюсовых суставов, поражения органов дыхания в виде интерстициальной пневмонии, маститы одной или обеих долей вымени. У животных до 3-месячного возраста наблюдается клиническая картина поражения центральной нервной системы, выражающаяся в нарушении координации и запрокидывании головы. Симптоматика заболевания проявляется лишь на терминальной стадии в возрасте 3–5 лет, у молодых животных – в первые 2–3 месяца после рождения. Ввиду слабой информационной осведомленности, а также учитывая тот факт, что клинические проявления АЭК носят неспецифический характер, большинство ветеринарных специалистов часто ставят ложный диагноз, что приводит к отсутствию эффекта от выбранной терапии.

В результате проведенных исследований были изучены клинические проявления и патолого-анатомические изменения при вирусном артрите-энцефалите коз.

При проведении патолого-анатомического вскрытия животного, больного АЭК, со стороны центральной нервной системы наблюдали инъецированность сосудов и наличие точечных кровоизлияний на поверхности головного мозга. Гистологическая картина характеризовалась наличием гиперемии, периваскулярного и периваскулярного отека мозговой ткани, а также скоплением мононуклеаров (лимфоцитов и моноцитов) вокруг кровеносных сосудов.

Края легких закругленные, поверхность бугристая, заметны обширные участки фиброза. На висцеральной плевре наблюдали фибринозный выпот, присутствова-



Рис. 10. Запястный сустав козла, больного АЭК

Fig. 10. Carpal joint of a CAE-infected goat

ли локальные кровоизлияния. При гистологическом исследовании заметно заполнение просветов альвеол экссудатом – сетчатыми массами фибрина и лейкоцитами.

Капсула пораженного сустава отека, с участками точечных кровоизлияний. В суставной полости отмечали наличие большого количества сгустков крови. Синовиальная оболочка рыхлая. На поверхности суставного хряща присутствовали участки дегенеративных изменений.

При микроскопии гистологических препаратов отмечали «мохристость» поверхности суставной капсулы, указывающую на дегенеративные изменения суставных поверхностей, которые являются следствием артрита.

В целом полученные результаты существенно расширяют опубликованные ранее сведения о патоморфологических изменениях при АЭК [17].

Симптомы данного заболевания не являются патогномоничными, что существенно затрудняет диагно-

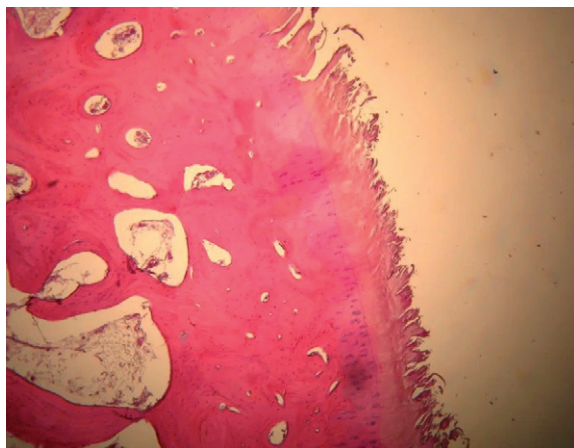


Рис. 11. Суставная поверхность. Гистосрез. «Мохристость» суставной поверхности при АЭК. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 100х)
Fig. 11. Articular surface. Histological section. CAE-caused erosion of the articular surface. Hematoxylin and eosin stain (magnification 100x)

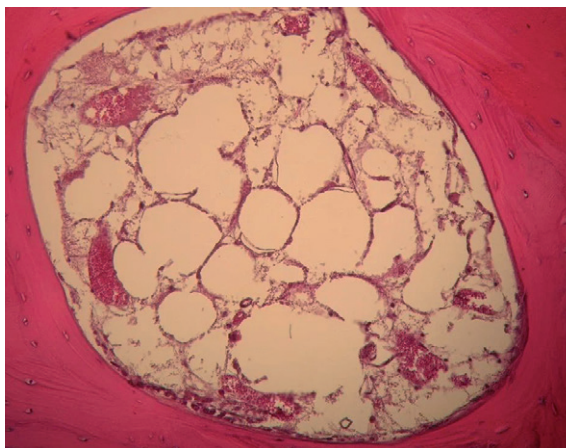


Рис. 12. Суставная поверхность. Гистосрез. Гемостаз при АЭК. Окраска гематоксилином и эозином (увеличение 100х)
Fig. 12. Articular surface. Histological section. CAE-related hemostasis. Hematoxylin and eosin stain (magnification 100x)

стику, основанную лишь на сборе анамнеза и анализе клинической картины. Вследствие этого основными методами диагностики являются проведение ИФА на наличие в сыворотке крови животных антител к вирусу АЭК либо ПЦР в режиме реального времени на детекцию провирусной ДНК.

Клинические проявления артрита-энцефалита коз можно наблюдать лишь на терминальной стадии болезни. При этом патологические процессы в тканях носят необратимый характер. Данный факт делает нецелесообразным проведение терапевтических мероприятий в отношении клинически больных животных, поэтому ветеринарные специалисты должны обращать внимание владельцев на профилактику распространения данного заболевания внутри хозяйства и за пределы неблагополучных по АЭК пунктов.

Следует отметить тот факт, что в настоящее время в Российской Федерации отсутствуют утвержденные на уровне Министерства сельского хозяйства нормативные акты, регламентирующие проведение профилактических мероприятий при вирусном артрите-энцефалите коз.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ramírez H., Reina R., Amorena B., de Andrés D., Martínez H. A. Small ruminant lentiviruses: genetic variability, tropism and diagnosis. *Viruses*. 2013; 5 (4): 1175–1207. DOI: 10.3390/v5041175.
- Moroz A., Czopowicz M., Sobczak-Filipiak M., Dolka I., Rzewuska M., Kizerwetter-Swida M., et al. The prevalence of histopathological features of pneumonia in goats with symptomatic caprine arthritis-encephalitis. *Pathogens*. 2022; 11 (6):629. DOI: 10.3390/pathogens11060629.
- Banks K. L., Adams D. S., McGuire T. C., Carlson J. Experimental infection of sheep by caprine arthritis-encephalitis virus and goats by progressive pneumonia virus. *Am. J. Vet. Res.* 1983; 44 (12): 2307–2311. PMID: 6318613.
- Pasick J. Maedi-visna virus and caprine arthritis-encephalitis virus: distinct species or quasispecies and its implications for laboratory diagnosis. *Can. J. Vet. Res.* 1998; 62 (4): 241–244. PMID: 9798087.
- Shah C., Böni J., Huder J. B., Vogt H. R., Mühlherr J., Zanoni R., et al. Phylogenetic analysis and reclassification of caprine and ovine lentiviruses based on 104 new isolates: evidence for regular sheep-to-goat transmission and worldwide propagation through livestock trade. *Virology*. 2004; 319 (1): 12–26. DOI: 10.1016/j.virol.2003.09.047.
- Pisoni G., Quasso A., Moroni P. Phylogenetic analysis of small-ruminant lentivirus subtype B1 in mixed flocks: evidence for natural transmission from goats to sheep. *Virology*. 2005; 339 (2): 147–152. DOI: 10.1016/j.virol.2005.06.013.
- Pisoni G., Bertoni G., Puricelli M., Maccalli M., Moroni P. Demonstration of coinfection with and recombination by caprine arthritis-encephalitis virus and maedi-visna virus in naturally infected goats. *J. Virol.* 2007; 81 (10): 4948–4955. DOI: 10.1128/JVI.00126-07.
- Leroux C., Cruz J. C., Mornex J. F. SRLVs: a genetic continuum of lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission. *Curr. HIV Res.* 2010; 8 (1): 94–100. DOI: 10.2174/157016210790416415.
- Prezioso S., Taccini E., Rossi G., Renzoni G., Braca G. Experimental maedi-visna virus infection in sheep: a morphological, immunohistochemical and PCR study after three years of infection. *Eur. J. Histochem.* 2003; 47 (4): 373–378. PMID: 14706934.
- Smith M. C., Sherman D. M. *Goat Medicine*. 2nd ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2009; 348–359.
- Kaba J., Czopowicz M., Ganter M., Nowicki M., Witkowski L., Nowicka D., Szaluś-Jordanow O. Risk factors associated with seropositivity to small ruminant lentiviruses in goat herds. *Res. Vet. Sci.* 2013; 94 (2): 225–227. DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.09.018.
- Пенькова И. Н., Балыбина Н. Ю., Коптев В. Ю. Выявление серопозитивных по артриту-энцефалиту коз животных на территории Сибирского и Уральского федеральных округов. *Ветеринария*. 2022; (3): 34–38. DOI: 10.30896/0042-4846.2022.25.3.34-37.
- Kojouri G. A., Emami M., Momtaz H. The first molecular detection of caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) in Iran. *J. Veterinar. Sci. Technol.* 2014; 5 (3): 1000184. DOI: 10.4172/2157-7579.1000184.
- Jarczak J., Kaba J., Bagnicka E. The validation of housekeeping genes as a reference in quantitative real time PCR analysis: application in the milk somatic cells and frozen whole blood of goats infected with caprine arthritis encephalitis virus. *Gene*. 2014; 549 (2): 280–285. DOI: 10.1016/j.gene.2014.07.063.
- De Andrés D., Klein D., Watt N. J., Berriatua E., Torsteinsdottir S., Blacklaws B. A., Harkiss G. D. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. *Vet. Microbiol.* 2005; 107 (1–2): 49–62. DOI: 10.1016/j.vetmic.2005.01.012.
- Rowe J. D., East N. E. Risk factors for transmission and methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 1997; 13 (1): 35–53. DOI: 10.1016/s0749-0720(15)30363-7.
- Кудряшов А. А., Балабанова В. И., Бабина С. Ю. Патоморфологические изменения в легких и головном мозге при вирусном артрите-энцефалите коз. *Актуальные вопросы ветеринарной биологии*. 2014; 3 (23): 54–58. EDN: SPCQYJ.
- Kaba J., Bagnicka E., Czopowicz M., Nowicki M., Witkowski L., Szaluś-Jordanow O. Long-term study on the spread of caprine arthritis-encephalitis in a goat herd. *Cent. Eur. J. Immunol.* 2011; 36 (3): 170–173.
- Kaba J., Czopowicz M., Nowicki M., Nowicka D., Witkowski L., Szaluś-Jordanow O. Role caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) infection in the occurrence of particular clinical symptoms in adult goats. *Bulletin USAMV. Serie Veterinary Medicine*. 2012; 69 (1–2). DOI: 10.15835/buasvmcn-vm:69:1-2:8849.
- Артрит-энцефалит коз. В кн.: *Медленные инфекции животных*. Н. И. Архипов, И. А. Бакулов, Л. И. Соковых. М.: Агропромиздат; 1987; 79–82.

21. Jones T. C., Hunt R. D., King N. W. Veterinary pathology. 6th ed. Baltimore, Md.: Williams & Wilkins; 1997. 1392 p.
22. Jubb K., Kennedy P., Palmer N. Pathology of domestic animals. Ed. by M. Maxie. Vol. 1–3. 5th ed. Edinburgh; New York: Elsevier Saunders; 2007. 932 p.
23. Кудряшов А. А. Патологоанатомическое вскрытие трупов животных. Часть 1. Условия вскрытия; порядок вскрытия трупов животных разных видов. *Ветеринарная практика*. 2004; (4): 27–31. EDN: YZUOJO.

REFERENCES

1. Ramírez H., Reina R., Amorena B., de Andrés D., Martínez H. A. Small ruminant lentiviruses: genetic variability, tropism and diagnosis. *Viruses*. 2013; 5 (4): 1175–1207. DOI: 10.3390/v5041175.
2. Moroz A., Czopowicz M., Sobczak-Filipiak M., Dolka I., Rzewuska M., Kizerwetter-Świda M., et al. The prevalence of histopathological features of pneumonia in goats with symptomatic caprine arthritis-encephalitis. *Pathogens*. 2022; 11 (6):629. DOI: 10.3390/pathogens11060629.
3. Banks K. L., Adams D. S., McGuire T. C., Carlson J. Experimental infection of sheep by caprine arthritis-encephalitis virus and goats by progressive pneumonia virus. *Am. J. Vet. Res.* 1983; 44 (12): 2307–2311. PMID: 6318613.
4. Pasick J. Maedi-visna virus and caprine arthritis-encephalitis virus: distinct species or quasispecies and its implications for laboratory diagnosis. *Can. J. Vet. Res.* 1998; 62 (4): 241–244. PMID: 9798087.
5. Shah C., Böni J., Huder J. B., Vogt H. R., Mühlherr J., Zanoni R., et al. Phylogenetic analysis and reclassification of caprine and ovine lentiviruses based on 104 new isolates: evidence for regular sheep-to-goat transmission and worldwide propagation through livestock trade. *Virology*. 2004; 319 (1): 12–26. DOI: 10.1016/j.virol.2003.09.047.
6. Pisoni G., Quasso A., Moroni P. Phylogenetic analysis of small-ruminant lentivirus subtype B1 in mixed flocks: evidence for natural transmission from goats to sheep. *Virology*. 2005; 339 (2): 147–152. DOI: 10.1016/j.virol.2005.06.013.
7. Pisoni G., Bertoni G., Puricelli M., Maccalli M., Moroni P. Demonstration of coinfection with and recombination by caprine arthritis-encephalitis virus and maedi-visna virus in naturally infected goats. *J. Virol.* 2007; 81 (10): 4948–4955. DOI: 10.1128/JVI.00126-07.
8. Leroux C., Cruz J. C., Mornex J. F. SRLVs: a genetic continuum of lentiviral species in sheep and goats with cumulative evidence of cross species transmission. *Curr. HIV Res.* 2010; 8 (1): 94–100. DOI: 10.2174/157016210790416415.
9. Preziuso S., Taccini E., Rossi G., Renzoni G., Braca G. Experimental maedi visna virus infection in sheep: a morphological, immunohistochemical and PCR study after three years of infection. *Eur. J. Histochem.* 2003; 47 (4): 373–378. PMID: 14706934.
10. Smith M. C., Sherman D. M. Goat Medicine. 2nd ed. Hoboken: Wiley-Blackwell; 2009; 348–359.

11. Kaba J., Czopowicz M., Ganter M., Nowicki M., Witkowski L., Nowicka D., Szaluś-Jordanow O. Risk factors associated with seropositivity to small ruminant lentiviruses in goat herds. *Res. Vet. Sci.* 2013; 94 (2): 225–227. DOI: 10.1016/j.rvsc.2012.09.018.
12. Penkova I. N., Balybina N. Yu., Koptev V. Yu. Detection of animals seropositive for arthritis-encephalitis in goats in the Siberian and Ural Federal districts. *Veterinariya*. 2022; (3): 34–38. DOI: 10.30896/0042-4846.2022.25.3.34-37. (in Russ.)
13. Kojouri G. A., Emami M., Momtaz H. The first molecular detection of caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) in Iran. *J. Veterinar. Sci. Technol.* 2014; 5 (3): 1000184. DOI: 10.4172/2157-7579.1000184.
14. Jarczak J., Kaba J., Bagnicka E. The validation of housekeeping genes as a reference in quantitative real time PCR analysis: application in the milk somatic cells and frozen whole blood of goats infected with caprine arthritis encephalitis virus. *Gene*. 2014; 549 (2): 280–285. DOI: 10.1016/j.gene.2014.07.063.
15. De Andrés D., Klein D., Watt N. J., Berriatua E., Torsteinsdottir S., Blacklaws B. A., Harkiss G. D. Diagnostic tests for small ruminant lentiviruses. *Vet. Microbiol.* 2005; 107 (1–2): 49–62. DOI: 10.1016/j.vetmic.2005.01.012.
16. Rowe J. D., East N. E. Risk factors for transmission and methods for control of caprine arthritis-encephalitis virus infection. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 1997; 13 (1): 35–53. DOI: 10.1016/s0749-0720(15)30363-7.
17. Kudryashov A. A., Balabanova V. I., Babina S. Yu. Pathomorphological findings in lungs and brain at caprine arthritis-encephalitis. *Actual Questions of Veterinary Biology*. 2014; (3): 54–58. EDN: SPCQYJ. (in Russ.)
18. Kaba J., Bagnicka E., Czopowicz M., Nowicki M., Witkowski L., Szaluś-Jordanow O. Long-term study on the spread of caprine arthritis-encephalitis in a goat herd. *Cent. Eur. J. Immunol.* 2011; 36 (3): 170–173.
19. Kaba J., Czopowicz M., Nowicki M., Nowicka D., Witkowski L., Szaluś-Jordanow O. Role caprine arthritis encephalitis virus (CAEV) infection in the occurrence of particular clinical symptoms in adult goats. *Bulletin USAMV. Serie Veterinary Medicine*. 2012; 69 (1–2). DOI: 10.15835/buasvmcn-vm:69:1-2:8849.
20. Caprine arthritis-encephalitis. In: *Slow infections of animals. N. I. Arhipov, I. A. Bakulov, L. I. Sokovyh*. Moscow: Agropromizdat; 1987; 79–82. (in Russ.)
21. Jones T. C., Hunt R. D., King N. W. Veterinary pathology. 6th ed. Baltimore, Md.: Williams & Wilkins; 1997. 1392 p.
22. Jubb K., Kennedy P., Palmer N. Pathology of domestic animals. Ed. by M. Maxie. Vol. 1–3. 5th ed. Edinburgh; New York: Elsevier Saunders; 2007. 932 p.
23. Koudryashov A. A. Pathoanatomical opening of corpses of animals. Part 1. Conditions of opening; the order of opening of corpses of different animals. *Veterinarnaya praktika*. 2004; (4): 27–31. EDN: YZUOJO. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 28.02.2023

Поступила после рецензирования / Revised 31.03.2023

Принята к публикации / Accepted 03.04.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Коптев Вячеслав Юрьевич, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории болезней молодняка СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0537-6659>, e-mail: kastrolog@mail.ru.

Шкиль Николай Алексеевич, доктор ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией болезней молодняка СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия; <https://orcid.org/0000-0002-5124-2208>, e-mail: shkil52@mail.ru.

Балыбина Наталья Юрьевна, научный сотрудник лаборатории болезней молодняка СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8786-3738>, e-mail: n.balybina@alumni.nsu.ru.

Пенькова Изабелла Николаевна, аспирант лаборатории болезней молодняка СФНЦА РАН, р. п. Краснообск, Новосибирская обл., Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6328-2509>, e-mail: penkova_izabella@mail.ru.

Vyacheslav Yu. Koptev, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Diseases of Young Animals, SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0537-6659>, e-mail: kastrolog@mail.ru.

Nikolay A. Shkil, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Head of Laboratory of Diseases of Young Animals, SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-5124-2208>, e-mail: shkil52@mail.ru.

Natalya Yu. Balybina, Researcher, Laboratory of Diseases of Young Animals, SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8786-3738>, e-mail: n.balybina@alumni.nsu.ru.

Isabella N. Penkova, Postgraduate, Laboratory of Diseases of Young Animals, SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Oblast, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6328-2509>, e-mail: penkova_izabella@mail.ru.

Проблема торовирусной инфекции животных (обзор литературы)

В. А. Мищенко¹, А. В. Мищенко², Т. Б. Никешина¹, Ю. В. Бровко³, А. И. Кушлубаева⁴

¹ ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Владимир, Россия

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

³ Тульский филиал ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (Тульский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Тула, Россия

⁴ Татарский филиал ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных» (Татарский филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ»), г. Казань, Республика Татарстан, Россия

РЕЗЮМЕ

Большой экономический ущерб животноводству наносят массовые нарушения функции пищеварения новорожденных телят, клинически проявляющиеся диареей, обуславливающей развитие выраженной дегидратации, токсемии, иммунодефицитов и нарушения обмена веществ. Этиопатогенетические поражения органов пищеварения отличаются значительным полиморфизмом, включающим широкий спектр различных факторов, в том числе физиологических, санитарно-гигиенических и инфекционных. Главной причиной массовых гастроэнтеритов новорожденных телят являются такие инфекционные агенты, как вирусы, бактерии и простейшие. Массовые диареи регистрируются у 70–80% новорожденных телят уже к концу первых суток. Гибель больных новорожденных телят наступает на 5–10-е сут и составляет от 15 до 55%. Чаще всего в пробах фекалий, отобранных от больных диареей новорожденных телят, наряду с бактериями выявляют ротавирус, коронавирус, пестивирус, парвовирус, энтеровирус и кобувир. Для профилактики указанных инфекций в Российской Федерации были разработаны диагностические и вакцинные препараты. В конце XX – начале XXI века на территорию России было завезено большое количество крупного рогатого скота из различных стран мира (США, Дания, Франция, Словакия, Австрия, Венгрия, Германия, Нидерланды, Австралия, Финляндия и др.), неблагополучных по ряду инфекционных болезней. Несмотря на высокую активность и полевую эффективность вакцин против рота-, коронавирусной инфекций и вирусной диареи, в ряде крупных животноводческих хозяйств были зарегистрированы массовые диареи новорожденных телят, ставшие причиной значительного экономического ущерба. В пробах фекалий от больных телят кроме перечисленных возбудителей был обнаружен торовирус. В данном сообщении приведены данные о торовирусной инфекции, свидетельствующие о широком географическом распространении торовируса животных во многих странах мира. Все это говорит о необходимости учета торовирусной инфекции при проведении эпизоотологических расследований в неблагополучных по массовым желудочно-кишечным заболеваниям новорожденных телят хозяйствах.

Ключевые слова: обзор, торовирус, телята, поросята, лошади, собаки, кошки, электронная микроскопия, патология желудочно-кишечного тракта, фекально-оральный путь заражения

Для цитирования: Мищенко В. А., Мищенко А. В., Никешина Т. Б., Бровко Ю. В., Кушлубаева А. И. Проблема торовирусной инфекции животных (обзор литературы). *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 133–139. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-133-139.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Мищенко Владимир Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела профилактики болезней рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: mishenko@arriah.ru.

Torovirus infection in animals: a review

V. A. Mischenko¹, A. V. Mischenko², T. B. Nikeshina¹, Yu. V. Brovko³, A. I. Kushlubaeva⁴

¹ FGBI "Federal Centre for Animal Health" (FGBI "ARRIAH"), Vladimir, Russia

² FSBSI "Federal Scientific Centre VIEV" (FSC VIEV), Moscow, Russia

³ Tula Branch of FGBI "Federal Centre for Animal Health" (Tula Branch of FGBI "ARRIAH"), Tula, Russia

⁴ Tatarian Branch of FGBI "Federal Centre for Animal Health" (Tatarian Branch of FGBI "ARRIAH"), Kazan, Republic of Tatarstan, Russia

SUMMARY

Massive digestive disorders of neonatal calves, clinically manifested as diarrhea causing severe dehydration, toxemia, immunodeficiency and metabolic disorders, induce huge economic losses in animal husbandry. Etiopathogenetic lesions of the digestive organs are characterized by significant polymorphism, including a wide range of various (physiological, sanitary and infectious) factors. Massive gastroenteritis in neonatal calves are primarily caused by such infectious agents as viruses, bacteria and protozoa. Massive diarrheas are registered in 70–80% of newborn calves by the end of the first day of life. Diseased newborn calves die on day 5–10 and mortality ranges from 15 to 55%. Rotavirus, coronavirus, pestivirus, parvovirus, enterovirus and kobuvirus, along with bacteria, are most frequently detected in faecal samples collected from neonatal calves with diarrhea. Diagnostic and vaccine products for prevention of these infections have been developed in the Russian Federation. At the end of the 20th – the beginning of the 21st century a large number of cattle were imported to Russia from the countries affected with different contagious diseases (USA, Denmark, France, Slovakia, Austria, Hungary, Germany, the Netherlands, Australia, Finland, etc.). Despite the high activity and field effectiveness of vaccines against rotavirus and coronavirus infections and viral diarrhea, massive neonatal calf diarrheas causing significant economic losses were registered in a number of large-scale livestock farms. Torovirus as well as the above-mentioned pathogens were detected in fecal samples from diseased calves. This

report provides data on torovirus infection indicating a wide geographical distribution of animal torovirus in many countries of the world. All this suggests the need to take into account torovirus infection when conducting epizootological investigations in farms affected with massive gastrointestinal diseases of neonatal calves.

Keywords: review, torovirus, calves, piglets, horses, dogs, cats, electron microscopy, gastrointestinal pathology, fecal-oral transmission route

For citation: Mischenko V. A., Mischenko A. V., Nikeshtina T. B., Brovko Yu. V., Kushlubaeva A. I. Torovirus infection in animals: a review. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 133–139. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-133-139.

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

For correspondence: Vladimir A. Mischenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, Department of Horned Livestock Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: mishenko@arriah.ru.

Актуальной проблемой животноводства по-прежнему остаются заболевания желудочно-кишечного тракта новорожденных телят, занимающие первое место по величине экономического ущерба. Данная патология, как правило, проявляется диареей и имеет инфекционную природу, обусловлена различными этиологическими агентами и протекает в форме смешанных инфекций.

Чаще всего в пробах фекалий, отобранных от больных диареей новорожденных телят, наряду с бактериями выявляют ротавирус, коронавирусы, пестивирус (вирус вирусной диареи – болезни слизистых крупного рогатого скота), парвовирус, энтеровирус и кобувирус [1–9]. Для профилактики ротавирусной и коронавирусной инфекций и вирусной диареи – болезни слизистых, вызванной вирусом первого генотипа, – в Российской Федерации были разработаны инактивированные вакцины [1–3, 10]. В настоящее время на территории страны зарегистрированы случаи циркуляции пестивирусов, относящихся более чем к 15 субгенотипам всех 3 генотипов [10]. Все это свидетельствует о значительных трудностях при выяснении этиологии желудочно-кишечной патологии у новорожденных телят. Такое многообразие возбудителей диареи значительно осложняет диагностику болезни, что обуславливает низкую эффективность профилактики и становится причиной значительного экономического ущерба.

Торовирус впервые был выявлен в 1972 г. в Берне (Швейцария) при исследовании проб фекалий больного диареей новорожденного жеребенка. Сначала этот возбудитель получил название по месту отбора проб «вирус Берна», затем его классифицировали как *Equine torovirus* (EToV) [11, 12]. В 1979 г. подобный по структуре вирус был обнаружен в пробах фекалий больных диареей телят из населенного пункта Бреда (США), теперь он известен как *Bovine torovirus* (BToV). На ферме Бреды у молодняка в течение нескольких месяцев регистрировалась тяжелая форма диареи [13, 14].

В 1984 г. вирус с аналогичной структурой выявили в пробах фекалий детей, страдающих диареей [15]. Еще через несколько лет, в 1997 г., торовирус обнаружили при исследовании методом электронной микроскопии проб фекалий от 3-недельных поросят с диареей на свиноферме в Великобритании [16]. В последующем данный возбудитель (*Porcine torovirus*, PToV) был выявлен в 6–40% проб фекалий, отобранных от больных диареей поросят в Нидерландах, Канаде, США, Южной

Африке, Китае, Бельгии, Италии, Венгрии, Испании и Южной Корее [17]. Антитела к торовирусу обнаружены в 50–100% сывороток крови поросят различного возраста. Торовирусы выявляли и в пробах фекалий других видов животных с диареей [18–21]. Было установлено, что между торовирусами свиней, крупного рогатого скота, лошадей, собак и кошек имеется близкое генетическое родство. Считается, что возможна межвидовая рекомбинация между данными возбудителями [16, 22, 23]. Ряд исследователей считают, что торовирусы обладают зоонозным потенциалом [13, 17, 24]. Согласно современной классификации вирусов, торовирусы относятся к роду *Torovirus*, входящему в семейство *Tobaniviridae*¹, хотя ранее его относили к семейству *Coronaviridae* [23, 25, 26].

Торовирусы представляют собой полиморфные оболочечные частицы диаметром 120–140 нм, окруженные пепломерами. Форма вирионов – двояковогнутый диск (рис.). Геном торовирусов представлен инфекционной односегментной линейной РНК позитивной полярности. Трубочатый нуклеокапсид изгибается в открытый тор (вздутие, узел), что и дало название возбудителю – «торовирус» [2, 13, 25, 27, 28].

Плавучая плотность вириона в сахарозе составляет 1,14–1,18 г/мл. Торовирусы устойчивы к фосфолипазе С, трипсину, химотрипсину. Тритон X-100 и органические растворители разрушают торовирусы. Они длительно сохраняются при температуре от –20 до –70 °С и в среде с рН от 2,5 до 10,5. При многократных замораживаниях-оттаиваниях происходит потеря пепломеров и разрушение вирионов [25].

К эпизоотологическим особенностям торовирусной инфекции относятся: длительное выделение возбудителя из организма больных животных и животных-вирусоносителей. Естественными хозяевами торовирусов являются крупный рогатый скот, свиньи и лошади. Основные источники возбудителя – это телята с диареей моложе 30-суточного возраста [29, 30]. Вирус выделяется из организма больных животных с фекалиями и истечениями из носа [14]. Факторами передачи могут быть контаминированные торовирусом корма и вода. Основным путем заражения телят является фекально-оральный [9, 31, 32].

При попадании в желудочно-кишечный тракт торовирусы прикрепляются к энтероцитам апикальной по-

¹ International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Режим доступа: <https://ictv.global/taxonomy>.

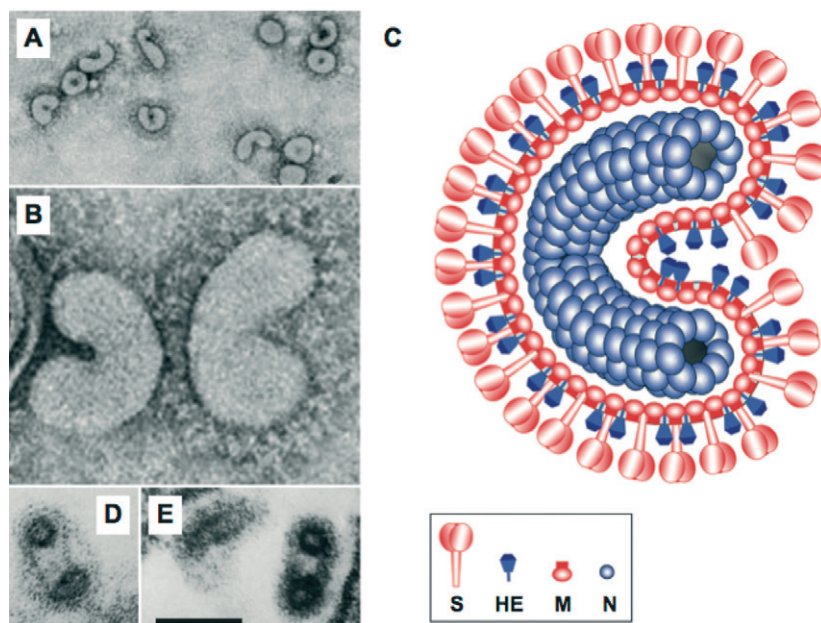


Рис. Электронная микрофотография вириона и структура торовируса:

S-белок – гликопротеиновый шип; HE-белок – белковый комплекс гемагглютининэстераза, участвующий в слиянии вируса с клеткой и подавлении иммунных реакций; М-белок – мембранный белок; N-белок – нуклеопротеин (<https://ictv.global/sites/default/files/inline-images/f68-08-9780123846846.png>)

Fig. Electron micrograph of the virion and structure of the torovirus: S-protein – glycoprotein spike; HE-protein – hemagglutinin-esterase protein complex involved in virus-cell fusion and suppression of immune response; M-protein – membrane protein; N-protein – nucleoprotein (<https://ictv.global/sites/default/files/inline-images/f68-08-9780123846846.png>)

верхности ворсинок дистального отдела тощей и подвздошной кишок, а также толстого кишечника [12, 33]. Вирус проникает в энтероциты через рецептор-опосредованный эндоцитоз. Репликация происходит в цитоплазме энтероцитов. Цикл репликации торовирусов занимает около 10–12 ч. Из энтероцитов в кишечник торовирусы выделяются при пиноцитозе. Характерная морфология торовирусов при электронно-микроскопическом исследовании наблюдается только в просвете кишечника у внеклеточных вирусных частиц или в вакуолях вблизи поверхности клетки. При торовирусной инфекции регистрируются некроз эпителия крипт, сливание энтероцитов ворсинок и их атрофия. Вызванные инфекцией поражения кишечника приводят к гиперсекреторной и мальабсорбционной диарее [27, 33, 34].

Торовирус обнаруживается в фекалиях больных телят, а в ряде случаев также в пробах фекалий, отобранных от клинически здорового молодняка из неблагополучных по желудочно-кишечным болезням хозяйств. Можно предположить, что образцы для исследования были отобраны от телят на разных стадиях патологического процесса [35]. В фекалиях торовирус обнаруживали в течение трех недель [13, 36]. Естественная инфекция обычно возникает у телят в возрасте от 2 до 5 сут, но телята до 4 месяцев, по-видимому, тоже восприимчивы к инфекции [37–39].

Данный вирус был выявлен в пробах фекалий не только от новорожденных телят с диареей, но и от клинически здорового взрослого крупного рогатого скота [40–42]. Клинические признаки, наблюдаемые при естественном заражении, были идентичны признакам, регистрируемым при ротавирусной и коронавирусной инфекциях [3–6, 43]. В пробах фекалий, отобранных от

новорожденных телят с диареей, наряду с торовирусами были выявлены норовирусы, небовирусы и кобувирусы [29, 31]. Торовирусы также обнаруживали в пробах фекалий и смывов из носа у крупного рогатого скота на откорме [8, 14, 31, 37].

Впервые японскими исследователями торовирус был изолирован в культуре клеток аденокарциномы прямой кишки человека (HRT-18) из содержимого подвздошной кишки теленка с признаками диареи. Цитопатическое действие проявлялось на 2–3-е сут после инокуляции вируса. В культуре клеток торовирус 3-го пассажа накапливался в титрах 5,8–6,8 lg ТЦД₅₀/мл. При проведении электронной микроскопии было установлено, что торовирус представляет собой овальные частицы диаметром 100–170 нм. Овальные и удлиненные частицы диаметром приблизительно от 100 до 170 нм с клубовидными выступами были обнаружены в супернатанте зараженной культуры, а торовирусоподобные (трубчатые и торуснуклеокапсидные) структуры наблюдали в зараженных клетках с помощью электронной микроскопии. Антисыворотка против торовируса крупного рогатого скота (BToV) реагировала с инфицированными клетками и нейтрализовала изолят этого возбудителя [44].

При эпизоотологических расследованиях, проводимых в неблагополучных по массовым диареем новорожденных телят хозяйствах, осуществляются исследования сывороток крови от переболевших животных на наличие антител к вирусам иммуноферментным методом. Для изучения распространенности торовирусной инфекции в Нидерландах и ФРГ были проведены серологические исследования проб сывороток крови ($n = 1313$ и $n = 716$ соответственно), отобранной от животных племенных и откормочных стад. При этом

антитела были обнаружены у 94% взрослого крупного рогатого скота, 90% новорожденных телят имели высокий уровень материнских антител, который достиг минимума к 3-месячному возрасту [45].

С целью определения роли торовируса крупного рогатого скота в развитии диареи специалисты из Японии изучили распространенность данного патогена. Для исследования методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией были отобраны образцы кала от телят с диареей и от здоровых особей. Торовирус был выявлен в 17,5% образцов от больных животных и в 7,0% случаев от здоровых телят. Эти данные показали, что в Японии циркулирует ВТОВ в основном среди телят в возрасте менее 2 недель [35, 46]. Данный возбудитель был обнаружен и в пробах фекалий от новорожденных телят с диареей в Канаде [29]. В Турции в период с 2009 по 2014 г. провели исследование фекалий от 235 новорожденных телят. РНК торовируса выявили в 4,7% проб [32]. В последующем при исследовании фекалий, отобранных от 72 телят с различных ферм Турции, ВТОВ обнаружили в 16,7% случаев. Данные филогенетического анализа показали, что изоляты вируса, выделенные из проб фекалий, отобранных от телят в Европе, Америке, юго-востоке Азии и Турции, разделены на отдельные ветки [47].

Неонатальная диарея телят наносит значительный экономический ущерб скотоводству Южной Кореи [38, 41]. В одном из хозяйств, где содержалось 207 голов молодняка крупного рогатого скота, была зарегистрирована диарея. В пробах фекалий от 164 (79,2%) животных были выявлены геномы возбудителей различных инфекционных заболеваний. В 69,9% проб обнаружены ротавирус, коронавирусы, торовирус, парвовирус, норовирус, кобувирус, пестивирус, в 31,8% образцов – бактерии *Escherichia coli* и *Clostridium*, в 31,7% проб – простейшие (эймерии), в 14,0% случаев – грибы [38]. Результаты данных исследований свидетельствуют о смешанной этиологии данной патологии.

При выяснении этиологии диареи новорожденных телят на фермах в Китае также были выявлены торовирусы [39]. ВТОВ изолировали из проб фекалий от телят с диареей в Хорватии [28], Австрии [22], от новорожденных телят и поросят в Венгрии [36]. Как показывают многочисленные исследования, торовирусная инфекция животных диагностирована во многих странах мира, в том числе в Швейцарии, США, Индии, Иране, Канаде, Германии, Франции, Бельгии, Великобритании, Коста-Рике, Нидерландах, Новой Зеландии, Южной Корее, Турции, Японии, Бразилии, Финляндии, Египте, Южной Корее и странах Южной Африки. В неблагополучных хозяйствах диарея, вызванная торовирусной инфекцией, регистрируется у 50–60% новорожденных телят, что приводит к гибели 5–10% голов молодняка. В большинстве случаев болезнь продолжается в течение 5–10 дней [14, 29, 32, 33, 35, 37, 38, 41, 42, 44–46, 48–51]. Полученные результаты исследований свидетельствуют о широком распространении торовируса в животноводческих хозяйствах.

При исследовании проб фекалий, отобранных в нескольких крупных животноводческих хозяйствах Российской Федерации от новорожденных телят с признаками диареи, электронной микроскопией, наряду с ротавирусом и коронавирусом, были обнаружены вирусные частицы, морфологически сходные с астровирусами [43] и торовирусами [6].

Лабораторная диагностика торовирусной инфекции базируется на результатах исследований проб фекалий методом полимеразной цепной реакции и обнаружения возбудителя в эпителиальных клетках тонкого отдела кишечника электронной и иммуноэлектронной микроскопией. Установлено, что ВТОВ размножается в клетках МДБК (культура клеток почки телят), НРТ-18 (культура клеток аденокарциномы прямой кишки человека) и щитовидной железы телят. В настоящее время средства специфической профилактики торовирусной инфекции не разработаны. При своевременной выпойке молозива, содержащего колостральные антитела, новорожденные телята защищены от данной инфекции. Наряду с этим рекомендуется соблюдение санитарно-гигиенических требований и мер биобезопасности, а также изоляция больных животных. Ряд исследователей считают, что торовирусы играют определенную роль в патогенезе диареи смешанной этиологии у взрослого крупного рогатого скота [40–42, 45].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные свидетельствуют о широком географическом распространении торовируса крупного рогатого скота, свиней, лошадей и других видов животных в разных странах мира. Торовирусная инфекция проявляется диареей новорожденных, что приводит к массовой гибели животных и наносит большой экономический ущерб животноводческим хозяйствам. Торовирус выделяется больными животными с фекалиями и носоглоточными выделениями. Основным путем заражения новорожденных животных является фекально-оральный. Вызванные торовирусной инфекцией поражения слизистой кишечника новорожденных животных приводят к развитию гиперсекреторной и мальабсорбционной диареи. Клинические признаки и патолого-анатомические изменения при торовирусной инфекции не отличаются от подобных, наблюдаемых при ротавирусной, коронавирусной инфекциях новорожденных телят и вирусной диареи – болезни слизистых крупного рогатого скота, широко распространенных в Российской Федерации. Торовирусы играют определенную роль в патогенезе диареи у взрослого крупного рогатого скота. Данные о близком генетическом родстве торовирусов крупного рогатого скота, свиней, лошадей, кошек и собак позволяют сделать предположение о большой вероятности перекрестного заражения указанных животных, что необходимо учитывать при выяснении этиологии массовых диарей данных видов животных. Эпизоотологической особенностью торовирусной инфекции является длительное выделение возбудителя в высоких концентрациях из организма больных животных и животных-вирусоносителей с фекалиями и истечениями из носа. Факторами передачи торовирусов могут служить контаминированные возбудителем корма и вода, а также предметы ухода. Все это свидетельствует о необходимости учета торовирусной инфекции при проведении эпизоотологических исследований в неблагополучных по массовым желудочно-кишечным заболеваниям новорожденных телят, поросят, жеребят хозяйствах, а также при болезнях собак и кошек с диарейным синдромом, принимая во внимание данные ряда исследователей о том, что торовирусы обладают зоонозным потенциалом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Актуальные инфекционные болезни крупного рогатого скота: руководство. Ред. Т. И. Алипер. М.: Сельскохозяйственные технологии; 2021. 832 с.
2. Сергеев В. А., Непоклонов Е. А., Алипер Т. И. Вирусы и вирусные вакцины. М.: Библионика; 2007. 524 с.
3. Гаффаров Х. З., Иванов А. В., Непоклонов Е. А., Равилов А. З. Моно- и смешанные инфекционные диареи новорожденных телят и поросят. Казань: Фэн; 2002. 590 с.
4. Инфекционная патология животных: в 2 т. Т. 1. Под ред. А. Я. Самуйленко, Б. В. Соловьева, Е. А. Непоклонова, Е. С. Воронина. М.: Академкнига; 2006. 910 с.
5. Кочетков С. А., Шибаев М. А., Чупин С. А., Прохвятилова Л. Б., Мищенко В. А. Распространение энтеровируса крупного рогатого скота на территории Центрального федерального округа Российской Федерации. *Ветеринарная патология*. 2009; (4): 17–20. EDN: OCZHKL.
6. Мищенко В. А., Павлов Д. К., Думова В. В., Никешина Т. Б., Пономарев А. П., Кононов А. В., Левченко С. В. Структура заболеваний пищеварительной системы новорожденных телят. *Ветеринария Кубани*. 2008; (5): 22–23. EDN: KZFOLT.
7. Мищенко В. А., Мищенко А. В., Яшин Р. В., Черных О. Ю., Лысенко А., Кривонос Р. А. Особенности кобувиральной инфекции сельскохозяйственных животных. *Ветеринария Кубани*. 2021; (5): 3–6. DOI: 10.33861/2071-8020-2021-5-3-6.
8. Юров К. П., Гулюкин М. И., Мникова Л. А., Алексеенкова С. В., Ишкова Т. А. Вирусы – возбудители распространенных и эмерджентных желудочно-кишечных инфекций крупного рогатого скота (обзор). *Ветеринария и кормление*. 2021; 2: 55–58. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-2-15.
9. Gomez D. E., Weese J. S. Viral enteritis in calves. *Can. Vet. J.* 2017; 58 (12): 1267–1274. PMID: 29203935.
10. Готов А. Г., Глотова Т. И., Нефедченко А. В., Котенева С. В. Генетический полиморфизм и распространение пестивирусов (*Flaviviridae: Pestivirus*) крупного рогатого скота в мире и в Российской Федерации. *Вопросы вирусологии*. 2022; 67 (1): 18–26. DOI: 10.36233/0507-4088-96.
11. Hoet A. E., Horzinek M. C. Torovirus. In: *Encyclopedia of Virology*. Ed. by B. W. J. Mahy, M. H. V. Van Regenmortel. 3rd ed. Academic Press; 2008; 151–157. DOI: 10.1016/B978-012374410-4.00516-1.
12. Koopmans M., Horzinek M. C. Toroviruses of animals and humans: a review. *Adv. Virus Res.* 1994; 43: 233–273. DOI: 10.1016/s0065-3527(08)60050-0.
13. Hoet A. E., Saif L. J. Bovine torovirus (Breda virus) revisited. *Anim. Health Res. Rev.* 2004; 5 (2): 157–171. DOI: 10.1079/ahr.2004.98.
14. Hoet A. E., Cho K. O., Chang K. O., Loerch S. C., Wittum T. E., Saif L. J. Enteric and nasal shedding of bovine torovirus (Breda virus) in feedlot cattle. *Am. J. Vet. Res.* 2002; 63 (3): 342–348. DOI: 10.2460/ajvr.2002.63.342.
15. Beards G. M., Hall C., Green J., Flewett T. H., Lamouliatte F., Du Pasquier P. An enveloped virus in stools of children and adults with gastroenteritis that resembles the Breda virus of calves. *Lancet*. 1984; 1 (8385): 1050–1052. DOI: 10.1016/s0140-6736(84)91454-5.
16. Орлянкин Б. Г., Алипер Т. И. Новые вирусы свиней. *Ветеринария*. 2015; (8): 3–8. EDN: UDKLVT.
17. Hu Z. M., Yang Y. L., Xu L. D., Wang B., Qin P., Huang Y. W. Porcine torovirus (PToV) – a brief review of etiology, diagnostic assays and current epidemiology. *Front. Vet. Sci.* 2019; 6:120. DOI: 10.3389/fvets.2019.00120.
18. Dai X., Lu S., Shang G., Zhu W., Yang J., Liu L., Xu J. Characterization and identification of a novel torovirus associated with recombinant bovine torovirus from Tibetan antelope in Qinghai-Tibet Plateau of China. *Front. Microbiol.* 2021; 12:737753. DOI: 10.3389/fmicb.2021.737753.
19. Weiss M., Steck F., Kaderli R., Horzinek M. C. Antibodies to Berne virus in horses and other animals. *Vet. Microbiol.* 1984; 9 (6): 523–531. DOI: 10.1016/0378-1135(84)90014-2.
20. Muir P., Harbourn D. A., Gruffydd-Jones T. J., Howard P. E., Hopper C. D., Gruffydd-Jones E. A., et al. A clinical and microbiological study of cats with protruding nictitating membranes and diarrhoea: isolation of a novel virus. *Vet. Rec.* 1990; 127 (13): 324–330. PMID: 2124013.
21. Chong R., Shi M., Grueber C. E., Holmes E. C., Hogg C. J., Belov K., Barrs V. R. Fecal viral diversity of captive and wild Tasmanian devils characterized using virion-enriched metagenomics and metatranscriptomics. *J. Virol.* 2019; 93 (11): e00205-19. DOI: 10.1128/JVI.00205-19.
22. Haschek B., Klein D., Benetka V., Herrera C., Sommerfeld-Stur I., Vilcek S., et al. Detection of bovine torovirus in neonatal calf diarrhoea in Lower Austria and Styria (Austria). *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.* 2006; 53 (4): 160–165. DOI: 10.1111/j.1439-0450.2006.00936.x.
23. Horzinek M. C., Flewett T. H., Saif L. J., Spaan W. J., Weiss M., Woode G. N. A new family of vertebrate viruses: *Toroviridae*. *Intervirology*. 1987; 27 (1): 17–24. DOI: 10.1159/000149710.
24. Castells M., Colina R. Viral enteritis in cattle: to well known viruses and beyond. *Microbiol. Res.* 2021; 12 (3): 663–682. DOI: 10.3390/microbiol-res12030048.
25. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. Под ред. Д. К. Львова. М.: Медицинское информационное агентство; 2013. 1200 с.
26. Ujike M., Taguchi F. Recent progress in torovirus molecular biology. *Viruses*. 2021; 13 (3):435. DOI: 10.3390/v13030435.
27. Cho Y. I., Yoon K. J. An overview of calf diarrhoea – infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J. Vet. Sci.* 2014; 15 (1): 1–17. DOI: 10.4142/jvs.2014.15.1.1.
28. Ljokić I., Krešić N., Šimić I., Bedeković T. Detection and molecular characterisation of bovine corona and toroviruses from Croatian cattle. *BMC Vet. Res.* 2015; 11:202. DOI: 10.1186/s12917-015-0511-9.
29. Duckmanton L., Carman S., Nagy E., Petric M. Detection of bovine torovirus in fecal specimens of calves with diarrhea from Ontario farms. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36 (5): 1266–1270. DOI: 10.1128/JCM.36.5.1266-1270.1998.
30. Cornelissen L. A., van Woensel P. A., de Groot R. J., Horzinek M. C., Visser N., Egberink H. F. Cell culture-grown putative bovine respiratory torovirus identified as a coronavirus. *Vet. Rec.* 1998; 142 (25): 683–686. DOI: 10.1136/vr.142.25.683.
31. Hoet A. E., Smiley J., Thomas C., Nielsen P. R., Wittum T. E., Saif L. J. Association of enteric shedding of bovine torovirus (Breda virus) and other enteropathogens with diarrhea in veal calves. *Am. J. Vet. Res.* 2003; 64 (4): 485–490. DOI: 10.2460/ajvr.2003.64.485.
32. Gülaçlı I., Işidan H., Sözdutalmaz I. Detection of bovine torovirus in fecal specimens from calves with diarrhea in Turkey. *Arch. Virol.* 2014; 159 (7): 1623–1627. DOI: 10.1007/s00705-014-1977-7.
33. Woode G. N., Pohlenz J. F., Gourley N. E., Fagerland J. A. Astrovirus and Breda virus infections of dome cell epithelium of bovine ileum. *J. Clin. Microbiol.* 1984; 19 (5): 623–630. DOI: 10.1128/jcm.19.5.623-630.1984.
34. Ávila-Pérez G., Rejas M. T., Chichón F. J., Guerra M., Fernández J. J., Rodríguez D. Architecture of torovirus replicative organelles. *Mol. Microbiol.* 2022; 117 (4): 837–850. DOI: 10.1111/mmi.14875.
35. Kirisawa R., Takeyama A., Koima M., Iwai H. Detection of bovine torovirus in fecal specimens of calves with diarrhea in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 2007; 69 (5): 471–476. DOI: 10.1292/jvms.69.471.
36. Matiz K., Kecskeméti S., Kiss I., Adám Z., Tanyi J., Nagy B. Torovirus detection in faecal specimens of calves and pigs in Hungary: short communication. *Acta Vet. Hung.* 2002; 50 (3): 293–296. DOI: 10.1556/AVet.50.2002.3.5.
37. Hoet A. E., Nielsen P. R., Hasoksuz M., Thomas C., Wittum T. E., Saif L. J. Detection of bovine torovirus and other enteric pathogens in feces from diarrhea cases in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2003; 15 (3): 205–212. DOI: 10.1177/104063870301500301.
38. Lee S. H., Kim H. Y., Choi E. W., Kim D. Causative agents and epidemiology of diarrhea in Korean native calves. *J. Vet. Sci.* 2019; 20 (6):e64. DOI: 10.4142/jvs.2019.20.e64.
39. Shi Z., Wang W., Chen C., Zhang X., Wang J., Xu Z., Lan Y. First report and genetic characterization of bovine torovirus in diarrhoeic calves in China. *BMC Vet. Res.* 2020; 16 (1):272. DOI: 10.1186/s12917-020-02494-1.
40. Li H., Zhang B., Yue H., Tang C. First detection and genomic characteristics of bovine torovirus in dairy calves in China. *Arch. Virol.* 2020; 165 (7): 1577–1583. DOI: 10.1007/s00705-020-04657-9.
41. Park S. J., Oh E. H., Park S. I., Kim H. H., Jeong Y. J., Lim G. K., et al. Molecular epidemiology of bovine toroviruses circulating in South Korea. *Vet. Microbiol.* 2008; 126 (4): 364–371. DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.07.012.
42. Aita T., Kuwabara M., Murayama K., Sasagawa Y., Yabe S., Higuchi R., et al. Characterization of epidemic diarrhea outbreaks associated with bovine torovirus in adult cows. *Arch. Virol.* 2012; 157 (3): 423–431. DOI: 10.1007/s00705-011-1183-9.
43. Черных О. Ю., Шевченко А. А., Мищенко В. А., Мищенко А. В., Шевкопляс В. Н. Астровирусная инфекция крупного рогатого скота. *Труды Кубанского ГАУ*. 2015; 57: 156–160. EDN: WHWYDV.
44. Kuwabara M., Wada K., Maeda Y., Miyazaki A., Tsunemitsu H. First isolation of cytopathogenic bovine torovirus in cell culture from a calf with diarrhea. *Clin. Vaccine Immunol.* 2007; 14 (8): 998–1004. DOI: 10.1128/CVI.00475-06.
45. Koopmans M., van den Boom U., Woode G., Horzinek M. C. Seroepidemiology of Breda virus in cattle using ELISA. *Vet. Microbiol.* 1989; 19 (3): 233–243. DOI: 10.1016/0378-1135(89)90069-2.
46. Ito T., Okada N., Fukuyama S. Epidemiological analysis of bovine torovirus in Japan. *Virus Res.* 2007; 126 (1–2): 32–37. DOI: 10.1016/j.virus-res.2007.01.013.
47. Aydin H., Timurkan M. O., Kirmizi G. A. Sequence analysis of Turkish field strains of bovine torovirus shows unique amino acid changes in the partial M gene. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2019; 9 (3): 129–134. DOI: 10.4103/2221-1691.254607.
48. Liebler E. M., Klüber S., Pohlenz J. F., Koopmans M. P. Zur Bedeutung des Bredavirus als Durchfallerreger in Niedersächsischen Kälberbeständen = The significance of bredavirus as a diarrhea agent in calf

herds in Lower Saxony. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 1992; 99 (5): 195–200. PMID: 1322268.

49. Koopmans M., van Wuijckhuise-Sjouke L., Schukken Y. H., Cremers H., Horzinek M. C. Association of diarrhea in cattle with torovirus infections on farms. *Am. J. Vet. Res.* 1991; 52 (11): 1769–1773. PMID: 1664668.

50. Nogueira J. S., Asano K. M., de Souza S. P., Brandão P. E., Richtzenhain L. J. First detection and molecular diversity of Brazilian bovine torovirus (BToV) strains from young and adult cattle. *Res. Vet. Sci.* 2013; 95 (2): 799–801. DOI: 10.1016/j.rvsc.2013.04.006.

51. Van Kruiningen H. J., Castellano V. P., Koopmans M., Harris L. L. A serologic investigation for coronavirus and Breda virus antibody in winter dysentery of dairy cattle in the northeastern United States. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1992; 4 (4): 450–452. DOI: 10.1177/104063879200400415.

REFERENCES

1. Current infectious diseases of cattle: a manual. Ed. T. I. Aliper. Moscow: Sel'skokhozyaistvennyye tekhnologii; 2021. 832 p. (in Russ.)

2. Sergeev V. A., Nepoklonov E. A., Aliper T. I. Viruses and viral vaccines. Moscow: Bibliotika; 2007. 524 p. (in Russ.)

3. Gaffarov Kh. Z., Ivanov A. V., Nepoklonov E. A., Ravilov A. Z. Mono- and mixed infectious diarrhea of neonatal calves and piglets. *Kazan: Fen;* 2002. 590 p. (in Russ.)

4. Animal infectious pathology in 2 vlns. Vol. 1. Ed. by A. Ya. Samuylenko, B. V. Soloviev, E. A. Nepoklonov, E. S. Voronin. Moscow: Akademkniga; 2006. 910 p. (in Russ.)

5. Kochetkov V. A., Shibayev M. A., Chupin S. A., Prokhvatilova L. B., Mishchenko V. A. Bovine enterovirus distribution in the Central Federal Okrug of the Russian Federation. *Veterinary Pathology.* 2009; (4): 17–20. EDN: OCZHLK. (in Russ.)

6. Mishchenko V. A., Pavlov D. K., Dumova V. V., Nikeshina T. B., Ponomarev A. P., Kononov A. V., Levchenko S. V. Struktura zaboolevaniy pishchevaritel'noi sistemy novorozhdennykh telyat = Structure of digestive system diseases in neonatal piglets. *Veterinaria Kubani.* 2008; (5): 22–23. EDN: KZFOLT. (in Russ.)

7. Mishchenko V. A., Mishchenko A. V., Yashin R. V., Chernykh O. Yu., Ly-senko A. A., Krivonos R. A. Features of cobuvirus infection of farm animals. *Veterinaria Kubani.* 2021; (5): 3–6. DOI: 10.33861/2071-8020-2021-5-3-6. (in Russ.)

8. Yurov K. P., Gulyukin M. I., Mnikova L. A., Alexeyenkova S. V., Ishkova T. A. Viruses causing frequent and emergent gastrointestinal infections of cattle (review). *Veterinaria i kormlenie.* 2021; 2: 55–58. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2021-2-15. (in Russ.)

9. Gomez D. E., Weese J. S. Viral enteritis in calves. *Can. Vet. J.* 2017; 58 (12): 1267–1274. PMID: 29203935.

10. Glotov A. G., Glotova T. I., Nefedchenko A. V., Koteneva S. V. Genetic diversity and distribution of bovine pestiviruses (*Flaviviridae: Pestivirus*) in the world and in the Russian Federation. *Problems of Virology.* 2022; 67 (1): 18–26. DOI: 10.36233/0507-4088-96. (in Russ.)

11. Hoet A. E., Horzinek M. C. Torovirus. In: *Encyclopedia of Virology.* Ed. by B. W. J. Mahy, M. H. V. Van Regenmortel. 3rd ed. Academic Press; 2008; 151–157. DOI: 10.1016/B978-012374410-4.00516-1.

12. Koopmans M., Horzinek M. C. Toroviruses of animals and humans: a review. *Adv. Virus Res.* 1994; 43: 233–273. DOI: 10.1016/S0065-3527(08)60050-0.

13. Hoet A. E., Saif L. J. Bovine torovirus (Breda virus) revisited. *Anim. Health Res. Rev.* 2004; 5 (2): 157–171. DOI: 10.1079/ahr.2004.98.

14. Hoet A. E., Cho K. O., Chang K. O., Loerch S. C., Wittum T. E., Saif L. J. Enteric and nasal shedding of bovine torovirus (Breda virus) in feedlot cattle. *Am. J. Vet. Res.* 2002; 63 (3): 342–348. DOI: 10.2460/ajvr.2002.63.342.

15. Beards G. M., Hall C., Green J., Flewett T. H., Lamouillat F., Du Pasquier P. An enveloped virus in stools of children and adults with gastroenteritis that resembles the Breda virus of calves. *Lancet.* 1984; 1 (8385): 1050–1052. DOI: 10.1016/S0140-6736(84)91454-5.

16. Orlyankin B. G., Aliper T. I. New swine viruses. *Veterinariya.* 2015; (8): 3–8. EDN: UDKLVT. (in Russ.)

17. Hu Z. M., Yang Y. L., Xu L. D., Wang B., Qin P., Huang Y. W. Porcine torovirus (PToV) – a brief review of etiology, diagnostic assays and current epidemiology. *Front. Vet. Sci.* 2019; 6:120. DOI: 10.3389/fvets.2019.00120.

18. Dai X., Lu S., Shang G., Zhu W., Yang J., Liu L., Xu J. Characterization and identification of a novel torovirus associated with recombinant bovine torovirus from Tibetan antelope in Qinghai-Tibet Plateau of China. *Front. Microbiol.* 2021; 12:737753. DOI: 10.3389/fmicb.2021.737753.

19. Weiss M., Steck F., Kaderli R., Horzinek M. C. Antibodies to Breda virus in horses and other animals. *Vet. Microbiol.* 1984; 9 (6): 523–531. DOI: 10.1016/0378-1135(84)90014-2.

20. Muir P., Harbour D. A., Gruffydd-Jones T. J., Howard P. E., Hopper C. D., Gruffydd-Jones E. A., et al. A clinical and microbiological study of cats with protruding nictitating membranes and diarrhoea: isolation of a novel virus. *Vet. Rec.* 1990; 127 (13): 324–330. PMID: 2124013.

21. Chong R., Shi M., Grueber C. E., Holmes E. C., Hogg C. J., Belov K., Barrs V. R. Fecal viral diversity of captive and wild Tasmanian devils characterized using virion-enriched metagenomics and metatranscriptomics. *J. Virol.* 2019; 93 (11): e00205-19. DOI: 10.1128/JVI.00205-19.

22. Haschek B., Klein D., Benetka V., Herrera C., Sommerfeld-Stur I., Vilcek S., et al. Detection of bovine torovirus in neonatal calf diarrhoea in Lower Austria and Styria (Austria). *J. Vet. Med. B Infect. Dis. Vet. Public Health.* 2006; 53 (4): 160–165. DOI: 10.1111/j.1439-0450.2006.00936.x.

23. Horzinek M. C., Flewett T. H., Saif L. J., Spaan W. J., Weiss M., Woode G. N. A new family of vertebrate viruses: *Toroviridae*. *Intervirology.* 1987; 27 (1): 17–24. DOI: 10.1159/000149710.

24. Castells M., Colina R. Viral enteritis in cattle: to well known viruses and beyond. *Microbiol. Res.* 2021; 12 (3): 663–682. DOI: 10.3390/microbiolres12030048.

25. Guidance on Virology. Human and Animal Viruses and Viral Infections. Ed. by D. K. Lvov. Moscow: Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo; 2013; 1200 p. (in Russ.)

26. Ujike M., Taguchi F. Recent progress in torovirus molecular biology. *Viruses.* 2021; 13 (3):435. DOI: 10.3390/v13030435.

27. Cho Y. I., Yoon K. J. An overview of calf diarrhea – infectious etiology, diagnosis, and intervention. *J. Vet. Sci.* 2014; 15 (1): 1–17. DOI: 10.4142/jvs.2014.15.1.1.

28. Ljokić I., Krešić N., Šimić I., Bedeković T. Detection and molecular characterisation of bovine corona and toroviruses from Croatian cattle. *BMC Vet. Res.* 2015; 11:202. DOI: 10.1186/s12917-015-0511-9.

29. Duckmanton L., Carman S., Nagy E., Petric M. Detection of bovine torovirus in fecal specimens of calves with diarrhea from Ontario farms. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36 (5): 1266–1270. DOI: 10.1128/JCM.36.5.1266-1270.1998.

30. Cornelissen L. A., van Woensel P. A., de Groot R. J., Horzinek M. C., Visser N., Egberink H. F. Cell culture-grown putative bovine respiratory torovirus identified as a coronavirus. *Vet. Rec.* 1998; 142 (25): 683–686. DOI: 10.1136/vr.142.25.683.

31. Hoet A. E., Smiley J., Thomas C., Nielsen P. R., Wittum T. E., Saif L. J. Association of enteric shedding of bovine torovirus (Breda virus) and other enteropathogens with diarrhea in veal calves. *Am. J. Vet. Res.* 2003; 64 (4): 485–490. DOI: 10.2460/ajvr.2003.64.485.

32. Gülaçlı I., Işidan H., Sözdutalmaz I. Detection of bovine torovirus in fecal specimens from calves with diarrhea in Turkey. *Arch. Virol.* 2014; 159 (7): 1623–1627. DOI: 10.1007/s00705-014-1977-7.

33. Woode G. N., Pohlenz J. F., Gourley N. E., Fagerland J. A. Astrovirus and Breda virus infections of dome cell epithelium of bovine ileum. *J. Clin. Microbiol.* 1984; 19 (5): 623–630. DOI: 10.1128/jcm.19.5.623-630.1984.

34. Ávila-Pérez G., Rejas M. T., Chichón F. J., Guerra M., Fernández J. J., Rodríguez D. Architecture of torovirus replicative organelles. *Mol. Microbiol.* 2022; 117 (4): 837–850. DOI: 10.1111/mmi.14875.

35. Kirisawa R., Takeyama A., Koiva M., Iwai H. Detection of bovine torovirus in fecal specimens of calves with diarrhea in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 2007; 69 (5): 471–476. DOI: 10.1292/jvms.69.471.

36. Matiz K., Kecskeméti S., Kiss I., Adám Z., Tanyi J., Nagy B. Torovirus detection in faecal specimens of calves and pigs in Hungary: short communication. *Acta Vet. Hung.* 2002; 50 (3): 293–296. DOI: 10.1556/AVet.50.2002.3.5.

37. Hoet A. E., Nielsen P. R., Hasoksuz M., Thomas C., Wittum T. E., Saif L. J. Detection of bovine torovirus and other enteric pathogens in feces from diarrhea cases in cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2003; 15 (3): 205–212. DOI: 10.1177/104063870301500301.

38. Lee S. H., Kim H. Y., Choi E. W., Kim D. Causative agents and epidemiology of diarrhea in Korean native calves. *J. Vet. Sci.* 2019; 20 (6):e64. DOI: 10.4142/jvs.2019.20.e64.

39. Shi Z., Wang W., Chen C., Zhang X., Wang J., Xu Z., Lan Y. First report and genetic characterization of bovine torovirus in diarrhoeic calves in China. *BMC Vet. Res.* 2020; 16 (1):272. DOI: 10.1186/s12917-020-02494-1.

40. Li H., Zhang B., Yue H., Tang C. First detection and genomic characteristics of bovine torovirus in dairy calves in China. *Arch. Virol.* 2020; 165 (7): 1577–1583. DOI: 10.1007/s00705-020-04657-9.

41. Park S. J., Oh E. H., Park S. I., Kim H. H., Jeong Y. J., Lim G. K., et al. Molecular epidemiology of bovine toroviruses circulating in South Korea. *Vet. Microbiol.* 2008; 126 (4): 364–371. DOI: 10.1016/j.vetmic.2007.07.012.

42. Aita T., Kuwabara M., Murayama K., Sasagawa Y., Yabe S., Higuchi R., et al. Characterization of epidemic diarrheal outbreaks associated with bovine torovirus in adult cows. *Arch. Virol.* 2012; 157 (3): 423–431. DOI: 10.1007/s00705-011-1183-9.

43. Chernykh O. Yu., Shevchenko A. A., Mishchenko V. A., Mishchenko A. V., Shevkopyas V. N. Astrovirus infection of cattle. *Trudy KubSAU.* 2015; 57: 156–160. EDN: WHWYDV. (in Russ.)

44. Kuwabara M., Wada K., Maeda Y., Miyazaki A., Tsunemitsu H. First isolation of cytopathogenic bovine torovirus in cell culture from a calf with diarrhea. *Clin. Vaccine Immunol.* 2007; 14 (8): 998–1004. DOI: 10.1128/CVI.00475-06.

45. Koopmans M., van den Boom U., Woode G., Horzinek M. C. Seroepidemiology of Breda virus in cattle using ELISA. *Vet. Microbiol.* 1989; 19 (3): 233–243. DOI: 10.1016/0378-1135(89)90069-2.

46. Ito T., Okada N., Fukuyama S. Epidemiological analysis of bovine torovirus in Japan. *Virus Res.* 2007; 126 (1–2): 32–37. DOI: 10.1016/j.virus-res.2007.01.013.

47. Aydin H., Timurkan M. O., Kirmizi G. A. Sequence analysis of Turkish field strains of bovine torovirus shows unique amino acid changes in the partial M gene. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 2019; 9 (3): 129–134. DOI: 10.4103/2221-1691.254607.

48. Liebler E. M., Klüver S., Pohlenz J. F., Koopmans M. P. Zur Bedeutung des Bredavirus als Durchfallerreger in Niedersächsischen Kälberbeständen = The significance of bredavirus as a diarrhea agent in calf herds in Lower Saxony. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 1992; 99 (5): 195–200. PMID: 1322268. (in German)

49. Koopmans M., van Wuijckhuise-Sjouke L., Schukken Y. H., Cremers H., Horzinek M. C. Association of diarrhea in cattle with torovirus infections on farms. *Am. J. Vet. Res.* 1991; 52 (11): 1769–1773. PMID: 1664668.

50. Nogueira J. S., Asano K. M., de Souza S. P., Brandão P. E., Richtzenhain L. J. First detection and molecular diversity of Brazilian bovine torovirus (BToV) strains from young and adult cattle. *Res. Vet. Sci.* 2013; 95 (2): 799–801. DOI: 10.1016/j.rvsc.2013.04.006.

51. Van Kruiningen H. J., Castellano V. P., Koopmans M., Harris L. L. A serologic investigation for coronavirus and Breda virus antibody in winter dysentery of dairy cattle in the northeastern United States. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1992; 4 (4): 450–452. DOI: 10.1177/104063879200400415.

Поступила в редакцию / Received 28.03.2023

Поступила после рецензирования / Revised 25.04.2023

Принята к публикации / Accepted 10.05.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мищенко Владимир Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник отдела профилактики болезней рогатого скота ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3751-2168>, e-mail: mishenko@arriah.ru.

Мищенко Алексей Владимирович, доктор ветеринарных наук, главный научный сотрудник ФГБНУ ФНЦ ВИЭВ РАН, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-9752-6337>, e-mail: viev@admin.ru.

Никешина Татьяна Борисовна, кандидат биологических наук, заведующий сектором отдела образования и научной информации ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0959-5915>, e-mail: nikeshina@arriah.ru.

Бровко Юлия Владимировна, аспирант, ветеринарный врач Тульской испытательной лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ» г. Тула, Россия; <https://orcid.org/0009-0004-5314-3918>, e-mail: brovko@arriah.ru.

Кушлубаева Альфия Исафиловна, аспирант, руководитель Татарской испытательной лаборатории ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Казань, Республика Татарстан, Россия; <https://orcid.org/0009-0002-2021-7656>, e-mail: kulushbaeva@arriah.ru.

Vladimir A. Mishchenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, Department of Horned Livestock Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3751-2168>, e-mail: mishenko@arriah.ru.

Alexey V. Mishchenko, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Chief Researcher, FSC VIEV, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-9752-6337>, e-mail: viev@admin.ru.

Tatiana B. Nikeshina, Candidate of Science (Biology), Head of Sector, Education and Scientific Support Department, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0959-5915>, e-mail: nikeshina@arriah.ru.

Yuliya V. Brovko, Postgraduate, Veterinarian, Tula Testing Laboratory, FGBI "ARRIAH", Tula, Russia; <https://orcid.org/0009-0004-5314-3918>, e-mail: brovko@arriah.ru.

Alfiya I. Kushlubaeva, Postgraduate, Head of Tatarian Testing Laboratory, FGBI "ARRIAH", Kazan, Republic of Tatarstan, Russia; <https://orcid.org/0009-0002-2021-7656>, e-mail: kulushbaeva@arriah.ru.



Распространение нетуберкулезных микобактерий в объектах эпизоотологического надзора в Республике Дагестан

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 определении причин возникновения и длительного неблагополучия хозяйств по туберкулезу, а также наличия на постоянной основе реагирующих на туберкулин животных в благополучных хозяйствах, способствующих затруднению аллергической диагностики, установлено, что основной является сохранение в объектах внешней среды патогенных и нетуберкулезных кислотоустойчивых форм микобактерий. В целях определения распространенности микобактерий типичных и атипичных форм в объектах эпизоотологического надзора исследовано 222 пробы биологического материала от крупного рогатого скота, 248 проб, отобранных из объектов внешней среды (навоза, почвы, воды из разных источников, кормов), 44 пробы молока из неблагополучных по туберкулезу хозяйств, 20 проб влагалищных выделений больных эндометритами коров и 405 проб мокроты больных туберкулезом людей. Выделение и идентификацию проводили в соответствии с рекомендациями. Из патматериала удалось выделить 39 культур, из которых 7 (17,9%) идентифицированы как *Mycobacterium bovis* и 32 (82,1%) – как атипичные. Из числа нетуберкулезных микобактерий 16 (50,0%) отнесены к группе II, 2 (6,2%) – к группе III и 14 (43,8%) – к группе IV по классификации Раньона. Установлено доминирующее значение видов из группы II – *Mycobacterium scrofulaceum* и *Mycobacterium gordonae* (скотохромогенные), группы IV – *Mycobacterium smegmatis* и *Mycobacterium fortuitum* (быстрорастущие). В пробах молока и влагалищных выделений от реагировавших на туберкулин коров микобактерии не обнаружили. Из 405 проб мокроты больных туберкулезом людей удалось изолировать 64 (15,8%) культуры, из которых 55 (85,9%) отнесены к *Mycobacterium tuberculosis*, 9 (14,1%) – к *Mycobacterium bovis*. В 65 (26,2%) образцах из объектов внешней среды из 248 исследованных обнаружены микобактерии, 58 (89,2%) из которых составляли атипичные виды II, III и IV групп, в 7 (10,8%) случаях из почвенных проб и навоза выделены *Mycobacterium bovis*. Изолировать *Mycobacterium tuberculosis* не удалось. Исследования показали широкое распространение нетуберкулезных кислотоустойчивых форм в объектах внешней среды, независимо от вертикальной зональности. Полученные данные представляют базовую основу для дальнейшего динамического слежения за циркуляцией микобактерий в природе в условиях Республики Дагестан в целях оптимизации профилактических мероприятий.

Ключевые слова: туберкулез, атипичные (нетуберкулезные) микобактерии, крупный рогатый скот, аллергическая диагностика, объекты внешней среды, биоматериал, ППД-туберкулин для млекопитающих, макроорганизм

Для цитирования: Баратов М. О. Распространение нетуберкулезных микобактерий в объектах эпизоотологического надзора в Республике Дагестан. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 140–146. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-140-146.

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, 88, e-mail: alama500@rambler.ru.

Nontuberculous mycobacterium occurrence in biological material and environmental samples covered by epidemiological surveillance in the Republic of Dagestan

M. O. Baratov

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

SUMMARY

An investigation for causes of tuberculosis occurrence and persistence on farms, as well as of continuous presence of tuberculin reactor animals on tuberculosis-free farms impeding allergy diagnosis revealed that the major cause is the persistence of pathogenic and nontuberculous acid-fast mycobacteria in the environment. To determine the occurrence of typical and atypical mycobacteria in samples covered by epidemiological surveillance, 222 biological material samples from cattle, 248 environmental samples (manure, soil, water from different sources, feedstuffs), 44 milk samples from tuberculosis-affected farms, 20 vaginal discharge samples from endometritis-affected cows and 405 sputum samples from tuberculosis-affected humans were tested. Isolation and identification were performed in accordance with the guidelines. Thirty-nine cultures were isolated from the pathological material; of these, 7 (17.9%) were identified as *Mycobacterium bovis*

and 32 (82.1%) were identified as atypical mycobacteria. Among nontuberculous mycobacterium cultures, 16 (50.0%) were classified as belonging to group II, 2 (6.2%) – as belonging to group III and 14 (43.8%) – as belonging to group IV according to the Runyon classification. The following species were found to be predominant: group II – *Mycobacterium scrofulaceum* and *Mycobacterium goodii* (scotochromogenous), group IV – *Mycobacterium smegmatis* and *Mycobacterium fortuitum* (rapidly growing). No mycobacteria were detected in milk samples and vaginal discharge samples from tuberculin reactor cows. From 405 sputum samples from tuberculosis-affected humans, 64 (15.8%) cultures were isolated, of which 55 (85.9%) were classified as *Mycobacterium tuberculosis*, 9 (14.1%) – as *Mycobacterium bovis*. Out of 248 environmental samples tested, mycobacteria were detected in 65 (26.2%) samples, of which 58 (89.2%) were atypical mycobacteria of groups II, III and IV; *Mycobacterium bovis* was isolated from 7 (10.8%) samples (soil and manure). The attempts to isolate *Mycobacterium tuberculosis* failed. The tests demonstrated the wide spread of nontuberculous acid-fast mycobacteria in the environment irrespective of the altitudinal zone. These findings constitute a basis for further monitoring of mycobacterium circulation in the environment in the Republic of Dagestan with a view of optimizing preventive measures.

Keywords: tuberculosis, atypical (nontuberculous) mycobacteria, cattle, allergy diagnosis, environmental objects, biological material, tuberculin PPD for mammals, macroorganism

For citation: Baratov M. O. Nontuberculous mycobacterium occurrence in biological material and environmental samples covered by epidemiological surveillance in the Republic of Dagestan. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 140–146. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-140-146.

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. Dakhadaeva, 88, e-mail: alama500@rambler.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема профилактики туберкулеза приобрела особую актуальность в условиях содержания большого количества животных на сравнительно небольших площадях с недостаточной инсоляцией. В этих условиях, наравне с повышенной эксплуатацией, снижается устойчивость организма и легче передается возбудитель туберкулеза аэрогенным путем [1–3].

В повышении эффективности мер борьбы с туберкулезом крупного рогатого скота большое значение имеют совершенствование системы диагностики и разработка новых надежных средств дифференциальной диагностики, что предполагает в том числе изучение роли атипичных кислотоустойчивых микобактерий в сенсibilизации макроорганизма к ППД-туберкулину для млекопитающих [4–7].

Широкое распространение атипичных кислотоустойчивых микобактерий в природе сделало внутрикожную аллергическую пробу с ППД-туберкулином для млекопитающих ориентировочной и значительно осложнило диагностику туберкулеза [8]. С усовершенствованием методов выделения культур микобактерий и углублением знаний увеличилось количество сообщений о выделении нетуберкулезных микобактерий из организма животных и человека [9–11]. По многочисленным литературным данным, атипичные микобактерии изолируют от реагирующих на туберкулин животных в 44,6% случаев, не реагирующих – в 48,8%, хотя полностью не решен вопрос, какие виды нетуберкулезных микобактерий и при каких условиях могут сенсibilизировать организм животных к туберкулину, недостаточно, по мнению многих исследователей, изучены экологические взаимоотношения данных видов [12, 13].

Интерес к данной группе микобактерий вызван способностью сенсibilизировать макроорганизм к туберкулину, не вызывая изменений туберкулезного характера в организме [14, 15]. В этой связи при отсутствии

видимых патологических изменений, характерных для туберкулеза, проводят бактериологические исследования, по результатам которых подтверждают или отрицают диагноз. Следует добавить, что применяемые в лабораторных условиях методы диагностики требуют длительных сроков и использования высокоэффективных питательных сред для получения максимально точного результата [7, 16]. Продолжителен по времени (до 3 и более месяцев) основной лабораторный метод, используемый для дифференциации специфической сенсibilизации от неспецифической (вызванной атипичными микобактериями), – биологическая проба. Анализ литературных источников показывает, что данная проба имеет низкую специфичность для дифференциации большинства видов атипичных микобактерий [17, 18].

Известно, что не все атипичные микобактерии способны сенсibilизировать организм животных к туберкулину. Поэтому вопросы выделения культур микобактерий из материалов от животных и их идентификация изучаются в неразрывной связи с обнаружением аллергических реакций и характерных туберкулезных изменений при патолого-анатомическом вскрытии [19]. Недостаточно изученными остаются вопросы взаимосвязи и взаимозаражаемости человека и животного, а также возможность перекрестной циркуляции микобактерий человеческого и животного видов [20]. Имеются сообщения о том, что в ряде случаев атипичные виды оказались этиологическими агентами различных заболеваний у людей [21, 22]. Большинство исследователей отрицают их патогенность для крупного рогатого скота и считают, что данные виды вызывают только сенсibilизацию к туберкулину [23, 24]. Важно и то, что некоторые атипичные микобактерии могут вызывать маститы у коров и лимфадениты у свиней [11, 25].

Неоспоримыми являются данные о том, что, в связи с исключительной устойчивостью к воздействию различных физических и химических факторов вследствие

высокого содержания в бактериальной клетке липидных веществ, патогенные формы микобактерий широко распространены в природе и имеют обширные контакты с макроорганизмами [26–29].

По многочисленным сообщениям, результаты мониторинга за циркуляцией нетуберкулезных кислотоустойчивых микобактерий свидетельствуют о том, что они надежно закрепились в природе и в настоящее время являются преобладающей причиной, вызывающей сенсбилизацию организма крупного рогатого скота к ППД-туберкулину для млекопитающих [30–35].

Несмотря на многочисленные работы по распространению данных таксонов в природе и взаимоотношению их с макроорганизмами, многие аспекты этой проблемы требуют дополнительного изучения.

Целью настоящей работы явилось определение распространения микобактерий в биоматериалах животных и человека, а также во внешней среде в Республике Дагестан в зависимости от вертикальной зональности и видового состава.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

При проведении послеубойного исследования было использовано 222 пробы биологического материала от крупного рогатого скота. Также было отобрано 248 проб из объектов внешней среды: навоза, почвы с пастбищ и территорий животноводческих объектов, воды из разных источников, кормов (солома, силос, сенаж, разнотравье). Кроме того, было исследовано 44 пробы молока, 20 проб влагалищных смывов больных эндометритами коров и 405 проб мокроты больных туберкулезом людей.

Предпосевную обработку гомогенатов биоматериалов проводили смесью 3%-го раствора лаурилсульфата натрия и 3%-го раствора гидроксида натрия, а мокроты людей – 0,5%-м раствором хлоргексидин биглюконата.

Выделение культур осуществляли с использованием наиболее часто применяемых в лабораторных условиях яичных и солевых сред, отличающихся по интенсивности и скорости роста (Левенштейна – Йенсена, Петраньяни, Сотона, Финн-II). Дифференциацию возбудителя туберкулеза человеческого вида от других микобактерий проводили по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам. В ряде случаев видовую принадлежность определяли постановкой биологической пробы на морских свинках и кроликах

путем введения животным суспензии исследуемого материала, приготовленной на стерильном физиологическом растворе.

Идентификацию выделенных культур проводили стандартными методами по ГОСТ 26072-89 «Животные и птица сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики туберкулеза» (СТ СЭВ 3457-81) и ГОСТ 27318-87 «Животные сельскохозяйственные. Методы идентификации атипичных микобактерий» (СТ СЭВ 5627-86).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При проведении бактериологических исследований 222 проб от реагировавших на туберкулин животных удалось выделить 39 культур, из которых 7 (17,9%) идентифицированы как *Mycobacterium bovis* и 32 (82,1%) – как атипичные. Из 32 культур нетуберкулезных микобактерий по классификации Раньона 16 (50,0%) отнесены к группе II, 2 (6,2%) – к группе III и 14 (43,8%) – к группе IV (рис. 1).

При анализе данных по дифференциации изолированных культур удалось установить доминирующие ассоциации атипичных микобактерий, заселяющих организм животных, которые представляли сочетание *Mycobacterium scrofulaceum* и *Mycobacterium gordonae* (группа II), *Mycobacterium smegmatis* и *Mycobacterium fortuitum* (группа IV) по классификации Раньона (табл. 1).

Не удалось обнаружить микобактерии в 44 пробах молока от реагировавших на туберкулин коров из неблагополучных по туберкулезу хозяйств и в 20 пробах

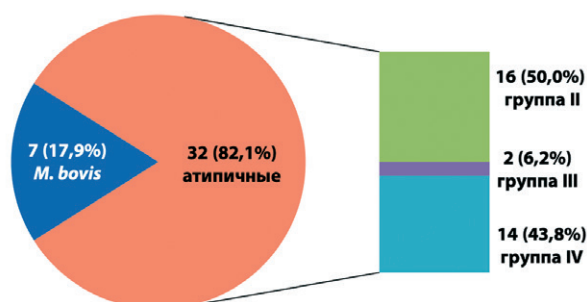


Рис. 1. Микобактерии, изолированные из биоматериала от крупного рогатого скота

Fig. 1. *Mycobacteria* isolated from biological material samples from cattle

Таблица 1

Видовое разнообразие микобактерий, выделенных из биоматериала от животных и человека

Table 1

Diversity of mycobacteria isolated from biological material samples from animals and humans

Вид пробы	Количество проб	Количество выделенных культур	Вид микобактерий					
			<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	Группа по Раньону			
					I	II	III	IV
Биоматериал от животных	222	39	–	7 (17,9%)	–	16 (50,0%)	2 (6,2%)	14 (43,8%)
Молоко	44	–	–	–	–	–	–	–
Влагалищные выделения	20	–	–	–	–	–	–	–
Мокрота людей	405	64 (15,8%)	55 (85,9%)	9 (14,1%)	–	–	–	–
Всего	691	103	55	16	–	16	2	14

влагалищных выделений больных эндометритами коров с положительной реакцией на введение туберкулина.

Из 405 образцов проб мокроты больных туберкулезом людей на среде Левенштейна – Йенсена удалось выделить 64 (15,8%) культуры микобактерий, из которых 55 (85,9%) идентифицированы как *Mycobacterium tuberculosis* и 9 (14,1%) – как *Mycobacterium bovis*.

При исследовании 248 проб, отобранных из объектов внешней среды, в 65 (26,2%) были обнаружены микобактерии, 58 (89,2%) из которых отнесены к представителям II, III и IV групп по классификации Раньона. В 7 (10,8%) случаях выделена культура микобактерий бычьего вида, *Mycobacterium tuberculosis* изолировать не удалось. Результаты отражены в таблице 2 и на рисунке 2.

Количественное распределение изолированных туберкулезных культур показало, что их удалось выделить только из почв пастбищ и навоза. Нетуберкулезные виды микобактерий были обнаружены в пробах кукурузного силоса, отобранных из силосной ямы на территории благополучного по туберкулезу крупного рогатого скота молочного комплекса СПК «Дылым» Казбековского района (предгорная зона), даже прямой микроскопией, что указывает на выживаемость и возможное размножение в технологических условиях силосования зеленой кукурузной массы. В дальнейшем более детальный анализ позволил установить взаимосвязь между стационарным реагированием на ППД-туберкулин для млекопитающих крупного рогатого скота в данном хозяйстве и циркуляцией на постоянной основе (по данным лабораторных исследований ряда лет) атипичных микобактерий в объектах внешней среды.

Исследования показали, что нетуберкулезные микобактерии обнаруживаются в пробах, взятых с территорий ферм, независимо от вертикальной зональности, в благополучных и неблагополучных по туберкулезу

хозяйствах. Так, например, представители группы IV атипичных микобактерий *Mycobacterium smegmatis* и *Mycobacterium phlei* были выделены из проб навоза и кормовых остатков из кормушек в СПК им. Чапаева (горная зона) и КФХ «Рассвет» (предгорная зона). *Mycobacterium scrofulaceum* (группа II) изолированы из образцов, отобранных на территории молочного комплекса СПК «Хамаматюртовский» (равнинная зона), и проб, взятых с околофермского участка СПК «Турчидаг» (горная зона).

Из проб почвы пастбищных угодий равнинной зоны микобактерии выделяются в большем количестве, нежели из объектов горной зоны. Так, из проб, отобранных на отдельных участках пастбищ СПК «Турчидаг» и СПК им. Чапаева (горная зона), бактерии не удалось изолировать, тогда как практически во всех пробах с пастбищных угодий равнинной зоны они были обнаружены.

Не выявлены микобактерии и в пробах воды горных рек и артезианских скважин. Представителя группы IV (*Mycobacterium fortuitum*) удалось изолировать из воды стоячих водоемов вблизи прифермского участка СПК «Рассвет» и неблагополучного по туберкулезу

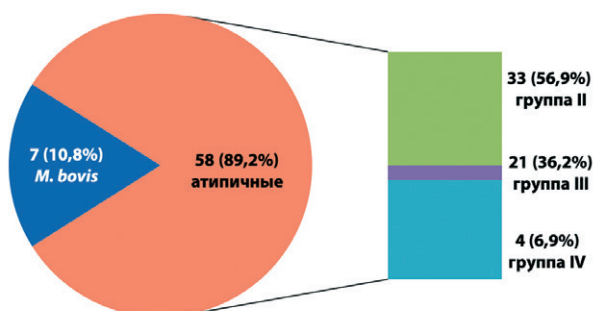


Рис. 2. Микобактерии, изолированные из объектов внешней среды

Fig. 2. Mycobacteria isolated from environmental samples

Таблица 2

Видовое разнообразие микобактерий, выделенных из объектов внешней среды

Table 2

Diversity of mycobacteria isolated from environmental samples

Вид пробы	Количество проб	Количество выделенных культур	Вид микобактерий					
			<i>M. tuberculosis</i>	<i>M. bovis</i>	Группа по Раньону			
					I	II	III	IV
Почва пастбищная	29	12	–	4	–	5	3	–
Почва с территории фермы	17	3	–	–	–	3	–	–
Вода стоячих водоемов	22	2	–	–	–	–	–	2
Вода артезианская	26	–	–	–	–	–	–	–
Вода речная	24	–	–	–	–	–	–	–
Сено разнотравное	30	6	–	–	–	5	1	–
Солома	20	4	–	–	–	1	3	–
Сенаж	21	8	–	–	–	6	1	1
Силос	25	3	–	–	–	2	1	–
Навоз	16	15	–	3	–	8	3	1
Пробы из помещений	18	12	–	–	–	3	9	–
Всего	248	65	–	7	–	33	21	4

молочного комплекса СПК «Терский» (Кизлярская зона отгонного животноводства), расположенного в равнинной зоне.

ОБСУЖДЕНИЕ И ВЫВОДЫ

При анализе полученных в процессе исследования данных четко прослеживается следующая закономерность: основной причиной сенсibilизации макроорганизма к ППД-туберкулину для млекопитающих могут являться представители групп II, III и IV (по Раньону) атипичных микобактерий. Доминирование бактерий из группы IV в пробах почвы, навоза и воды стоячих водоемов дает основание заключить, что они являются типичными облигатными представителями нетуберкулезных микобактерий, контаминировавших природные объекты Республики Дагестан и формирующих желудочно-кишечный микобактериальный пейзаж в организме крупного рогатого скота. Наши результаты согласуются с данными П. С. Гусейновой с соавт., С. И. Джупины, М. Ridell, а также E. Stackebrandt and B. M. Goebel, полученными при определении преобладающих причин сенсibilизации организма крупного рогатого скота к туберкулину для млекопитающих [30–32, 35].

Вместе с тем в ряде случаев в динамике исследования наблюдали периодическое отсутствие атипичных микобактерий в исследуемых пробах. Полагаем, что это связано с несовершенством лабораторной диагностики, переходом нетуберкулезных микобактерий в некультивируемое состояние, различного рода трансформациями и изменениями генетической структуры. Этот факт очень важен, поскольку многочисленные исследования, в том числе и последних лет, свидетельствуют о том, что атипичные микобактерии выделяются из подстилочного материала и объектов внешней среды, в то же время их не находят в биоматериале от реагирующих на туберкулин животных, и наоборот [17, 18, 22].

В этой связи возникает необходимость в использовании индивидуальных схем исследования по отношению к каждому конкретному виду типичных и атипичных форм микобактерий, которые позволят охарактеризовать особенности их изолирования, культивирования, типизации и сенсibilизирующей макроорганизм к туберкулину способности микобактериоподобных микроорганизмов.

Расширение лабораторной диагностики и мониторинга за циркуляцией в природе нетуберкулезных микобактерий позволит оперативно реагировать и интерпретировать результаты аллергических исследований в целях своевременного применения комплекса ветеринарно-санитарных мероприятий.

Таким образом, приведенные данные показывают, что атипичные микобактерии имеют широкое распространение во внешней среде. Возбудители туберкулеза бычьего вида выделяют из биоматериала от реагирующих на туберкулин животных, из объектов внешней среды и почв прифермских участков неблагополучных по туберкулезу хозяйств, а также из мокроты больных туберкулезом людей. Необходимо продолжить работу по осуществлению мониторинга за циркуляцией микобактерий всех форм во всех природно-климатических зонах Республики Дагестан и обеспечить контроль за реализацией ветеринарно-санитарных мероприятий, направленных на предупреждение распространения микобактерий в природных резервуарах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баратов М. О. Проблемы и перспективы серологической диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2021; (1): 33–37. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-33-37.
2. Водолазский Д. К., Грибалкин А. С. Эпизоотологические особенности течения туберкулеза крупного рогатого скота в хозяйствах различных почвенно-климатических зон Ставропольского края. *Диагностика, лечение, профилактика заболеваний сельскохозяйственных животных: сборник научных трудов*. Ставрополь: Ставропольский СХИ. 1978; 41 (5): 51–53.
3. Найманов А. Х. Проблемы диагностики и профилактики туберкулеза крупного рогатого скота в современных условиях. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2: 18–23. eLIBRARY ID: 9165613.
4. Донченко А. С., Овдиенко Н. П., Донченко Н. А. Диагностика туберкулеза крупного рогатого скота. Отв. ред. А. С. Донченко. Новосибирск: Сиб. отд. РАСХН; 2004. 308 с.
5. Gcebe N., Hlokwet T. M. Non-tuberculous mycobacteria in South African Wildlife: Neglected pathogens and potential impediments for bovine tuberculosis diagnosis. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7:15. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00015.
6. Прокопьева Н. И. Изучение природы аллергических реакций у крупного рогатого скота благополучных по туберкулезу стад. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2: 134–136. eLIBRARY ID: 9165659.
7. Нуратинов Р. А. Питательная среда для выращивания микобактерий. Патент № 2121000 Российская Федерация, МПК C12Q 1/04(2006.01), C12N 1/20(2006.01), C12R 1/32(2006.01). Прикаспийский зональный научно-исследовательский ветеринарный институт. № 95111841/13. Заявл. 11.07.1995. Оpubл. 27.10.1998. Режим доступа: <https://patentimages.storage.googleapis.com/9c/9a/14/3d7cf-8ce31e172/RU2121000C1.pdf>.
8. Баратов М. О., Ахмедов М. М., Сакидибилов О. П. К выяснению причин неспецифических реакций на туберкулин. *Ветеринарный врач*. 2014; 2: 24–28. eLIBRARY ID: 21422421.
9. Кассич Ю. Я., Кочмарский В. А., Тихонов П. М., Загородний А. И. Изучение сенсibilизирующих и патогенных свойств атипичных микобактерий. *Ветеринария*. 1989; 4: 13–15.
10. Муковнин А. А., Найманов А. Х., Гулюкин А. М. Туберкулез крупного рогатого скота в России. *Ветеринария*. 2020; 7: 19–24. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.7.19-24.
11. Pavlik I., Ulmann V., Falkinham J. O. 3rd. Nontuberculous mycobacteria: ecology and impact on animal and human health. *Microorganisms*. 2022; 10 (8):1516. DOI: 10.3390/microorganisms10081516.
12. Wolinsky E., Ryneerson T. K. Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1968; 97 (6): 1032–1037. DOI: 10.1164/arrd.1968.97.6P1.1032.
13. Jenkins A. O., Gormley E., Gcebe N., Fosgate G. T., Conan A., Aagaard C., et al. Cross-reactive immune responses in cattle arising from exposure to *Mycobacterium bovis* and non-tuberculous mycobacteria. *Prev. Vet. Med.* 2018; 152: 16–22. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2018.02.003.
14. Баратов М. О., Гусейнова П. С. К поиску причин сенсibilизации крупного рогатого скота к ППД-туберкулину для млекопитающих. *Ветеринария сегодня*. 2021; 10 (4): 271–276. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-271-276.
15. Алексеев А. Ю., Дурыманов А. Г., Рассадкин Ю. Н., Шестопалов А. М., Репин В. Е. Метод культивирования для изучения физиологии микобактерий. *Материалы VIII Съезда Всероссийского общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (26–28 марта 2002 г.)*. М.: РОСИНЭКС; 2002; 3: 186–187.
16. Мингалеев Д. Н. Новые средства и методы профилактики туберкулеза молодняка крупного рогатого скота: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Казань; 2018. 42 с. Режим доступа: <https://viewer.rsl.ru/ru/rs101008706808?page=1&rotate=0&theme=white>.
17. Толстенко Н. Г. Патогенные свойства некоторых видов микобактерий, выделенных от животных и объектов внешней среды: автореф. дис. ... канд. вет. наук. М.; 2006. 27 с. Режим доступа: https://new-dissert.ru/_avtoreferats/01002977938.pdf.
18. Michel A. L. *Mycobacterium fortuitum* infection interference with *Mycobacterium bovis* diagnostics: natural infection cases and a pilot experimental infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2008; 20 (4): 501–503. DOI: 10.1177/104063870802000415.
19. Bercovier H., Vincent V. Mycobacterial infections in domestic and wild animals due to *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. porcinum*, *M. farcinogenes*, *M. smegmatis*, *M. scrofulaceum*, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. simiae* and *M. genavense*. *Rev. Sci. Tech.* 2001; 20 (1): 265–290. DOI: 10.20506/rst.20.1.1269.
20. Овдиенко Н. П., Найманов А. Х., Солодова И. В. Эпизоотическая обстановка по туберкулезу крупного рогатого скота в зарубежных странах в начале XXI века. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2: 51–54. eLIBRARY ID: 9165626.

21. Найманов А. Х., Овдиенко Н. П., Помыканов Н. П. Диагностика туберкулеза крупного рогатого скота в индивидуальных хозяйствах. *Актуальные проблемы инфекционной патологии и иммунологии животных: материалы конференции (16–17 мая 2006 г.)*. М.: Издграф; 2006; 297–302. eLIBRARY ID: 26057721.
 22. Pavlik I., Ulmann V., Hubelova D., Weston R. T. Nontuberculous mycobacteria as sapronoses: a review. *Microorganisms*. 2022; 10 (7):1345. DOI: 10.3390/microorganisms10071345.
 23. Баратов М. О. Неспецифические реакции – проблема диагностики туберкулеза животных. *Ветеринария и кормление*. 2020; 4: 16–18. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-4-5.
 24. Смирнов А. М. Современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза у животных. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2: 10–13. eLIBRARY ID: 9165611.
 25. Актуальные проблемы профилактики и борьбы с туберкулезом и бруцеллезом животных: Бюллетень Всесоюзного ордена Ленина научно-исследовательского института экспериментальной ветеринарии имени Я. Р. Коваленко. М.: ВИЭВ; 1987; Вып. 64. 79 с.
 26. Kanetsuna F., Bartoli A. A simple chemical method to differentiate *Mycobacterium* from *Nocardia*. *J. Gen. Microbiol.* 1972; 70 (2): 209–212. DOI: 10.1099/00221287-70-2-209.
 27. Власенко В. С., Кособова Е. А., Денгис Н. А., Новикова Н. Н. Функциональное состояние нейтрофилов у инфицированных микобактериями морских свинок под действием иммуномодулятора КИМ-М2. *Пермский аграрный вестник*. 2022; 3 (39): 63–69. DOI: 10.47737/2307-2873_2022_39_62.
 28. Lechevalier M. P., Horan A. C., Lechevalier H. Lipid composition in the classification of *Nocardia* and *Mycobacteria*. *J. Bacteriol.* 1971; 105 (1): 313–318. DOI: 10.1128/jb.105.1.313-318.1971.
 29. Uchida K., Aida K. Taxonomic significance of cell-wall acyl type in *Corynebacterium-Mycobacterium-Nocardia* group by a glycolate test. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1979; 25: 169–183. DOI: 10.2323/jgam.25.169.
 30. Гусейнова П. С., Баратов М. О. Сравнительное изучение методов диагностики туберкулеза крупного рогатого скота. *Ветеринария и кормление*. 2020; 4: 24–26. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-4-8.
 31. Джупина С. И. Фундаментальные знания эпизоотического процесса – основа контроля туберкулеза крупного рогатого скота. *Ветеринарная патология*. 2004; 1–2: 45–47. eLIBRARY ID: 9165623.
 32. Ridell M. Immunodiffusion studies of *Mycobacterium*, *Nocardia* and *Rhodococcus* for taxonomical purposes. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene*. 1981; Suppl. 11: 235–241.
 33. Лабораторная диагностика туберкулеза. Методические материалы к проведению цикла тематического усовершенствования врачей. Под ред. В. В. Ерохина. М.: П. Валент; 2012. 701 с.
 34. Лискова Е., Слинина К. Выделение микобактерий из патологического материала от положительно реагирующих на туберкулин животных. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2016; 2: 47–49. eLIBRARY ID: 36977044.
 35. Stackebrandt E., Goebel B. M. Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1994; 44 (4): 846–849. DOI: 10.1099/00207173-44-4-846.
- ## REFERENCES
1. Barátov M. O. Problems and prospects of bovine tuberculosis serological diagnosis. *Veterinary Science Today*. 2021; (1): 33–37. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-33-37.
 2. Vodolazsky D. K., Gribalkin A. S. Epizootologicheskie osobennosti techeniya tuberkuleza krupnogo rogatogo skota v khozyaistvakh razlichnykh pochvenno-klimaticheskikh zon Stavropol'skogo kraya = Epidemiological pattern of bovine tuberculosis on farms in different edapho-climatic zones of the Stavropol Krai. *Diagnostika, lechenie, profilaktika zabollevaniy sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh: sbornik nauchnykh trudov = Diagnosis, treatment, prevention of livestock diseases: collection of papers*. Stavropol: Stavropol Agriculture Institute. 1978; 41 (5): 51–53. (in Russ.)
 3. Naimanov A. Kh. Problemy diagnostiki i profilaktiki tuberkuleza krupnogo rogatogo skota v sovremennykh usloviyakh = Problems of bovine tuberculosis diagnosis and prevention under present day conditions. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 1–2: 18–23. eLIBRARY ID: 9165613. (in Russ.)
 4. Donchenko A. S., Ovdienko N. P., Donchenko N. A. Diagnosis of bovine tuberculosis. Responsible ed. A. S. Donchenko. Novosibirsk: Siberian Branch of RAAS; 2004. 308 p. (in Russ.)
 5. Gcebe N., Hlokwé T. M. Non-tuberculous mycobacteria in South African Wildlife: Neglected pathogens and potential impediments for bovine tuberculosis diagnosis. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2017; 7:15. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00015.
 6. Prokop'eva N. I. Izuchenie prirody allergicheskikh reaktivov u krupnogo rogatogo skota blagopoluchnykh po tuberkulezu stad = Studies of nature of allergic reactions in cattle of tuberculosis-free herds. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 1–2: 134–136. eLIBRARY ID: 9165659. (in Russ.)
 7. Nuratinov R. A. Nutrient medium for mycobacterium culturing. Patent No. 2121000 Russian Federation, Int. Cl. C12Q 1/04(2006.01), C12N 1/20(2006.01), C12R 1/32(2006.01). Prikaspijskij zonal'nyj nauchno-issledovatel'skij veterinarnyj institut. Application: 95111841/13. Application published: 11.07.1995. Date of publication: 27.10.1998. Available at: <https://patentimages.storage.googleapis.com/9c/9a/14/3d7cf8ce31e172/RU2121000C1.pdf>. (in Russ.)
 8. Barátov M. O., Ahmedov M. M., Sakidibirov O. P. On causes of non-specific reaction to tuberculin. *The Veterinarny Vrach*. 2014; 2: 24–28. eLIBRARY ID: 21422421. (in Russ.)
 9. Kassich Yu. Ya., Kochmarskii V. A., Tikhonov P. M., Zavgorodnii A. I. Izuchenie sensibiliziruyushchikh i patogennykh svoystv atipichnykh mikobakterii = Studies of sensitizing and pathogenic properties of atypical mycobacteria. *Veterinariya*. 1989; 4: 13–15. (in Russ.)
 10. Mukovnin A. A., Naimanov A. H., Gulukin A. M. Bovine tuberculosis in the Russian Federation. *Veterinariya*. 2020; 7: 19–24. DOI: 10.30896/0042-4846.2020.23.7.19-24. (in Russ.)
 11. Pavlik I., Ulmann V., Falkinham J. O. 3rd. Nontuberculous mycobacteria: ecology and impact on animal and human health. *Microorganisms*. 2022; 10 (8):1516. DOI: 10.3390/microorganisms10081516.
 12. Wolinsky E., Ryneerson T. K. Mycobacteria in soil and their relation to disease-associated strains. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1968; 97 (6): 1032–1037. DOI: 10.1164/arrd.1968.97.6P1.1032.
 13. Jenkins A. O., Gormley E., Gcebe N., Fosgate G. T., Conan A., Aagaard C., et al. Cross-reactive immune responses in cattle arising from exposure to *Mycobacterium bovis* and non-tuberculous mycobacteria. *Prev. Vet. Med.* 2018; 152: 16–22. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2018.02.003.
 14. Barátov M. O., Huseynova P. S. More on search for causes of sensitization to tuberculin PPD for mammals in cattle. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (4): 271–276. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-10-4-271-276.
 15. Alekseev A. Yu., Durymanov A. G., Rassadkin Yu. N., Shestopalov A. M., Repin V. E. Metod kul'tivirovaniya dlya izucheniya fiziologii mikobakterii = A culture technique to study the physiology of mycobacteria. *Materialy VIII S'ezda Vserossiiskogo obshchestva epidemiologov, mikrobiologov i parazitologov (26–28 marta 2002 g.) = Proceedings of the VIII Congress of All-Russian Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists (26–28 March 2002)*. Moscow: ROSINKES; 2002; 3: 186–187. (in Russ.)
 16. Mingaleev D. N. Novel tools and methods of bovine tuberculosis prevention in young animals: Author's Abstract of Thesis for degree of Doctor of Science (Veterinary Medicine). Kazan; 2018. 42 p. Available at: <https://viewer.rsl.ru/ru/rsl01008706808?page=1&rotate=0&theme=white>. (in Russ.)
 17. Tolstenko N. G. Pathogenicity of certain mycobacterium species isolated from animals and the environment: Author's Abstract of Thesis for degree of Candidate of Science (Veterinary Medicine). Moscow; 2006. 27 p. Available at: https://new-dissert.ru/_avtoreferats/01002977938.pdf. (in Russ.)
 18. Michel A. L. *Mycobacterium fortuitum* infection interference with *Mycobacterium bovis* diagnostics: natural infection cases and a pilot experimental infection. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2008; 20 (4): 501–503. DOI: 10.1177/104063870802000415.
 19. Bercovier H., Vincent V. Mycobacterial infections in domestic and wild animals due to *Mycobacterium marinum*, *M. fortuitum*, *M. chelonae*, *M. porcinum*, *M. farcinogenes*, *M. smegmatis*, *M. scrofulaceum*, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. simiae* and *M. genavense*. *Rev. Sci. Tech.* 2001; 20 (1): 265–290. DOI: 10.20506/rst.20.1.1269.
 20. Ovdienko N. P., Naimanov A. Kh., Solodova I. V. Epizooticheskaya obstanovka po tuberkulezu krupnogo rogatogo skota v zarubezhnykh stranakh v nachale XXI veka = Bovine tuberculosis epidemic situation in foreign countries in early XXI century. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 1–2: 51–54. eLIBRARY ID: 9165626. (in Russ.)
 21. Naimanov A. Kh., Ovdienko N. P., Pomykanov N. P. Diagnostika tuberkuleza krupnogo rogatogo skota v individual'nykh khozyaistvakh = Bovine tuberculosis diagnosis on individual farms. *Aktual'nye problemy infektsionnoi patologii i immunologii zhivotnykh: materialy konferentsii (16–17 maya 2006 g.) = Topical issues of animal infectious pathology and immunology: proceedings of the conference (16–17 May 2006)*. Moscow: Izograf; 2006; 297–302. eLIBRARY ID: 26057721. (in Russ.)
 22. Pavlik I., Ulmann V., Hubelova D., Weston R. T. Nontuberculous mycobacteria as sapronoses: a review. *Microorganisms*. 2022; 10 (7):1345. DOI: 10.3390/microorganisms10071345.
 23. Barátov M. O. Non-specific reactions – the problem of diagnosing of animal tuberculosis. *Veterinariya i kormlenie*. 2020; 4: 16–18. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-4-5. (in Russ.)
 24. Sмирнов А. М. Современные проблемы диагностики и профилактики туберкулеза у животных = Current issues of tuberculosis diagnosis

and prevention in animals. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 1–2: 10–13. eLIBRARY ID: 9165611. (in Russ.)

25. Topical issues of tuberculosis and brucellosis prevention and control in animals: Bulletin of the All-Union Order of Lenin Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after Ya. R. Kovalenko. Moscow: VIEV; 1987; Iss. 64. 79 p. (in Russ.)

26. Kanetsuna F., Bartoli A. A simple chemical method to differentiate *Mycobacterium* from *Nocardia*. *J. Gen. Microbiol.* 1972; 70 (2): 209–212. DOI: 10.1099/00221287-70-2-209.

27. Vlasenko V. S., Kosobokov E. A., Dengis N. A., Novikova N. N. The functional state of neutrophils for mycobacteria-infected guinea pigs under the action immunomodulator KIM-M2. *Perm Agrarian Journal*. 2022; 3 (39): 63–69. DOI: 10.47737/2307-2873_2022_39_62. (in Russ.)

28. Lechevalier M. P., Horan A. C., Lechevalier H. Lipid composition in the classification of *Nocardiae* and *Mycobacteria*. *J. Bacteriol.* 1971; 105 (1): 313–318. DOI: 10.1128/jb.105.1.313-318.1971.

29. Uchida K., Aida K. Taxonomic significance of cell-wall acyl type in *Corynebacterium-Mycobacterium-Nocardia* group by a glycolate test. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 1979; 25: 169–183. DOI: 10.2323/jgam.25.169.

30. Guseynova P. S., Baratov M. O. Comparative study of methods of the diagnosis of cattle tuberculosis. *Veterinaria i kormlenie*. 2020; 4: 24–26. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-4-8. (in Russ.)

31. Dzhupina S. I. Fundamental'nye znaniya epizooticheskogo protsesa – osnova kontrolya tuberkuleza krupnogo rogatogo skota = Fundamental knowledge of the epidemic process – the basis of bovine tuberculosis control. *Veterinarnaya patologiya*. 2004; 1–2: 45–47. eLIBRARY ID: 9165623. (in Russ.)

32. Ridell M. Immunodiffusion studies of *Mycobacterium*, *Nocardia* and *Rhodococcus* for taxonomical purposes. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene*. 1981; Suppl. 11: 235–241.

33. Laboratory diagnosis of tuberculosis. Methodical materials for advanced focused training cycle for medical practitioners. Ed. by V. V. Erohin. Moscow: R. Valent; 2012. 701 p. (in Russ.)

34. Liskova E., Slinina K. Isolation of mycobacteria from pathological material from tuberculous positive animals. *Veterinariya sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh*. 2016; 2: 47–49. eLIBRARY ID: 36977044. (in Russ.)

35. Stackebrandt E., Goebel B. M. Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1994; 44 (4): 846–849. DOI: 10.1099/00207713-44-4-846.

Поступила в редакцию / Received 22.11.2022

Поступила после рецензирования / Revised 21.12.2022

Принята к публикации / Accepted 17.01.2023

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.

Молекулярная идентификация вируса ньюкаслской болезни, выделенного в домашнем птицеводстве Подмосковья летом 2022 года

А. А. Трещалина¹, А. А. Ртищев², Е. Ю. Шустова¹, А. В. Белякова¹, А. С. Гамбарян¹, Е. Ю. Боравлева¹

¹ ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита) (ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» (ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова), г. Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

В августе 2022 г. в Московской области (городской округ Черноголовка, деревня Старки) на личном подворье внезапно начался падеж кур, в результате которого в течение нескольких дней погибли или заболели все 45 голов этого хозяйства со следующими признаками: выделение серой слизи из ноздрей и клюва, резкие кашляющие звуки. Через 1–3 дня после появления симптомов птица погибала. Из тканей, полученных от павших кур, был выделен вирус ньюкаслской болезни, являющийся представителем обширного семейства парамиксовирусов. Определены нуклеотидные последовательности фрагментов гена F, кодирующего поверхностный белок слияния, и гена NP, кодирующего белок нуклеокапсида. Для гена F определен мотив сайта протеолиза ₁₀₉SGGRRQKRFIG₁₁₉, типичный для велегенного патотипа, также проведен филогенетический анализ, по результатам которого установлена принадлежность изолята к субгенотипу VII класса II подсемейства *Avulavirinae*. С помощью Basic Local Alignment Search Tool выявлено наиболее генетически близкое родство с изолятами из Ирана. Установлено, что среднее время смерти развивающихся куриных эмбрионов при заражении минимальной инфекционной дозой составило 52 ч, что характерно для велегенного патотипа. Вирус вызывал 100%-ю гибель цыплят шестинедельного возраста при оральном заражении, а также 100%-й падеж всего контактного молодняка, включая содержащихся в клетках на отдалении, что доказывает высокий уровень патогенности и контагиозности выделенного изолята и его способность распространяться не только фекально-оральным, но и аэрозольным путем. Гибель мышей при интраназальном заражении высокими дозами не наблюдалась.

Ключевые слова: вирус ньюкаслской болезни, патогенность, молекулярно-генетический анализ, контагиозность

Благодарность: Исследование профинансировано ФГАНУ «Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита).

Для цитирования: Трещалина А. А., Ртищев А. А., Шустова Е. Ю., Белякова А. В., Гамбарян А. С., Боравлева Е. Ю. Молекулярная идентификация вируса ньюкаслской болезни, выделенного в домашнем птицеводстве Подмосковья летом 2022 года. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 147–153. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-147-153.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Трещалина Анастасия Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), 108819, Россия, г. Москва, поселение Московский, поселок Института полиомиелита, домовладение 8, корп. 1, e-mail: treshchalinaA@gmail.com.

Molecular identification of Newcastle disease virus isolated on the poultry farm of the Moscow Oblast in summer of 2022

A. A. Treshchalina¹, A. A. Rtishchev², E. Yu. Shustova¹, A. V. Belyakova¹, A. S. Gambaryan¹, E. Yu. Boravleva¹

¹ FSANI "Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Science" (Institute of Poliomyelitis) (FSANI "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia

² FSBSI "I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera" (I. Mechnikov NIIVS), Moscow, Russia

SUMMARY

In August 2022, a sudden death in backyard chickens was reported in the Moscow Oblast (urban district Chernogolovka, settlement Starki). As a result, within just a few days 45 chickens on this farm died or fell ill with the following signs – gray mucus discharge from nostrils and beak, coughing, gasping and rales. On day 1–3 after the onset of symptoms, the chicken died. The Newcastle disease virus, which is a representative of the *Paramyxoviruses* family, was isolated from the dead poultry. We determined the nucleotide sequences of fragments in F gene (encodes the fusion surface protein) and in NP gene (encodes the nucleocapsid protein). The motif of ₁₀₉SGGRRQKRFIG₁₁₉ proteolysis site, typical for the velogenic pathotype, was determined for the F gene, and a phylogenetic analysis was carried out to demonstrate that the isolate belonged to Subgenotype VII, Class II of the subfamily *Avulavirinae*. The Basic Local Alignment Search Tool revealed that they are most genetically related with isolates from Iran. It was found that the average death time of developing chicken embryos, infected with a minimum infectious dose, was 52 hours, which is typical for the velogenic pathotype. The virus caused 100% death in six-week-old chickens after oral infection and 100% death in all contact

chickens, including those kept in cages at a distance, which proves the high level of pathogenicity and contagiousness of the recovered isolate and its ability to transmit both via fecal-oral and aerosols-borne routes. No death cases were reported in mice after intranasal infection with high doses.

Keywords: Newcastle disease virus, pathogenicity, molecular genetic analysis, contagiousness

Acknowledgements: The study was funded by the FSAS "Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products of Russian Academy of Science" (Institute of Poliomyelitis).

For citation: Treshchalina A. A., Rtishchev A. A., Shustova E. Yu., Belyakova A. V., Gambaryan A. S., Boravleva E. Yu. Molecular identification of Newcastle disease virus isolated on the poultry farm of the Moscow Oblast in summer of 2022. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 147–153. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-147-153.

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

For correspondence: Anastasiya A. Treshchalina, Junior Researcher, Laboratory for Molecular Biology of Viruses, FSAS "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), 108819, Russia, Moscow, poselenie Moskovskii, poselok Institute of Poliomyelitis, domovladenie 8, korp. 1, e-mail: treshchalinaA@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Вirus ньюкаслской болезни (Newcastle disease virus, NDV), или *Avian orthoavulavirus 1* (AOAV-1), относится к обширному семейству *Paramixoviridae*, подсемейству *Avulavirinae*, представители которого вызывают заболевания различной степени тяжести у птиц [1]. NDV поражает более 240 видов диких и домашних птиц и представляет собой оболочечный вирус с отрицательной одноцепочечной РНК. Геном не сегментирован и имеет длину около 15 000 оснований, разделенных консервативными некодирующими областями на шесть генов в последовательности 3'-NP-P-M-F-HN-L-5', кодирующих восемь белков [2, 3].

Одним из ключевых факторов, влияющих на патогенность NDV, является количество основных кислот в сайте расщепления белка F [4]. Низкопатогенные штаммы вируса имеют последовательность сайта протеолиза $_{109}\text{SGGGR(K)QGR}\text{LIG}_{119}$ и могут расщепляться только внеклеточными трипсиноподобными протеазами. У высокопатогенных штаммов NDV мотив имеет несколько основных аминокислот (лизин или аргинин) и фенилаланин в аминокислотной позиции 117: $_{109}\text{SGGRRQ(K/R)RF(V/I)G}_{119}$. Белок такого вируса способен переходить в активную форму с помощью фуриноподобных протеаз, присутствующих во всех клетках организма. Данный вирус вызывает генерализованную инфекцию [5].

Филогенетически NDV делится на 2 класса, первый из которых включает всего один генотип и представлен преимущественно апатогенными штаммами вируса, изолированными от диких и одомашненных птиц [6]. Второй класс подразделяется на 21 генотип и включает разнообразные по вирулентности штаммы, поражающие широкий спектр хозяев [7]. Представители этого класса распространены по всему миру и многократно являлись причиной эпизоотий.

Для домашней птицы NDV представляет серьезную угрозу. Летальность среди зараженного поголовья кур может достигать 100%. По патогенности для цыплят NDV делят на лентогенный (низкопатогенный), мезогенный (вызывающий заболевания средней тяжести у взрослых кур и гибель молодых птиц) и велогенный (высокопатогенный для кур всех возрастов) патотипы [3].

Распространение вируса может происходить при торговле домашней птицей и с продуктами птицеводства, а также при перемещении работников зараженных птицефабрик и транспортных средств [8]. Еще одним путем распространения является миграция диких птиц [9, 10]. Хотя большинство апатогенных изолятов NDV, выделенных от диких птиц, не представляют серьезной опасности для кур, существует вероятность накопления мутаций, повышающих патогенность вируса [11].

Цель исследования – провести молекулярный и филогенетический анализ вируса ньюкаслской болезни, выделенного из патматериала от кур одного из личных хозяйств Подмосковья, определить его патотип и учесть патогенность и контагиозность изолята.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Реагенты. МусоKill AB (PAA Laboratories GmbH, Австрия); мини-набор для выделения вирусной РНК QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Германия); набор реактивов для обратной транскрипции MMLV RT kit, случайный декануклеотидный праймер, набор реактивов Tersus Plus PCR kit, вода без нуклеаз, ДНК-маркеры и буфер TAE (Евроген, Россия); ингибитор рибонуклеазы (НПК «Синтол», Россия); набор реагентов для секвенирования ABI PRISM® BigDye™ Terminator v3.1 (ThermoFisher Scientific Inc., США).

Изоляция вируса. Для выделения вируса использовали образцы легких и почек погибших кур. Фрагменты тканей растирали с мелкодисперсным стеклом, добавляли четырехкратный объем фосфатно-солевого буфера (PBS) с добавлением 0,4 мг/мл гентамицина, 0,1 мг/мл канамицина, 0,01 мг/мл нистатина и 2%-го раствора МусоKill AB. Суспензию центрифугировали 10 мин при 4000 об/мин, и 0,2 мл супернатанта инокулировали в 10-суточные развивающиеся куриные эмбрионы (ПКЭ) через аллантаис. Инкубация продолжалась 72 ч при 37 °С с контролем гибели эмбрионов дважды в сутки. Затем собирали вируссодержащую аллантаисную жидкость (BAЖ) и исследовали в реакции гемагглютинации (РГА) с использованием 1%-й суспензии куриных эритроцитов по общепринятой методике [12]. Количество вируса выражали в гемагглютинирующих единицах. 50%-ю инфекционную дозу (EID_{50}) определяли титрованием в ПКЭ.

Выделение РНК, получение кДНК и секвенирование. Вирусную РНК экстрагировали из вирусосодержащих аллантоисных жидкостей с применением набора QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя. Реакция обратной транскрипции проводилась с помощью набора реактивов MMLV RT kit (Евроген, Россия) в присутствии случайного декануклеотидного праймера. Постановку полимеразной цепной реакции (ПЦР) осуществляли в объеме 25 мкл с использованием набора реактивов Tersus Plus PCR Kit (Евроген, Россия): стерильная вода для ПЦР – 17,5 мкл; 10× Tersus Plus буфер – 2,5 мкл; 50× смесь dNTP – 0,5 мкл; прямой праймер fFapmv2 (10 мкМ) – 1 мкл; обратный праймер rFapmv2 (10 мкМ) – 1 мкл, кДНК – 2 мкл; 50× Tersus полимеразы – 0,5 мкл. Олигонуклеотиды, использованные в работе: fFapmv2 (ATGGGCTCCAGACCTTCTAC); rFapmv2 (CTGCCACTGCTAGTTGCGATAATCC); fNPapmv (GGTATTCTGTCTTCGGATTG); rNPapmv (TCATCCGATATAAACGCAT). Анализ результатов ПЦР проводили электрофорезом в 2%-м агарозном геле в трис-ацетатном буфере. ПЦР-фрагменты длиной около 500 п. н. вырезались для очистки из геля набором Qiagen MinElute Gel Extraction Kit (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя. Определение нуклеотидных последовательностей ПЦР-фрагментов проводили с использованием набора реагентов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v3.1 (ThermoFisher Scientific, США) с последующим анализом продуктов реакции на секвенаторе ABI PRISM 3130 (ThermoFisher Scientific, США). Анализ полученных хроматограмм проводили с помощью программы SnapGene Viewer¹.

Филогенетический анализ. Все последовательности скачивались из базы данных GenBank². Обработку последовательностей проводили с помощью BioEdit 7.2³ и MEGA X⁴ [13, 14]. Для байесовского филогенетического анализа методом MCMC (Markov Chain Monte Carlo) исследуемых нуклеотидных последовательностей ($n = 150$) с применением модели General Time Reversible (GTR) применяли программный пакет BEAST v1.10.4 [15]. Для визуализации и аннотирования дерева использовали онлайн-сервис iTOL v6⁵. Идентификацию генотипа проводили на основе филогенетической топологии.

Определение патотипа вируса. Патотип вируса определяли по методике mean death time (MDT). В аллантоисные полости 9-суточных РКЭ инокулировали по 0,2 мл десятикратных разведений свежей ВАЖ на PBS (от 10^{-3} до 10^{-7}), после чего инкубировали при 37 °C пять суток, проверяя 2 раза в день и регистрируя время смерти каждого эмбриона. MDT рассчитывали как среднее время смерти эмбриона при заражении минимальной летальной дозой. При значении MDT до 60 ч патотип вируса определяется как везогенный, от 60–90 – как мезогенный, больше 90 – как лентогенный.

Анализ патогенности и контагиозности вируса для кур. Цыплят породы леггорн 6-недельного возраста заражали перорально, добавляя вирус в поилку. Контрольной и контактной группам добавляли в поилку

свежую аллантоисную жидкость без вируса. Каждая группа содержала по 5 цыплят и изначально находилась в отдельных клетках. Наблюдения за цыплятами продолжали ежедневно в течение 10 сут после заражения.

Анализ патогенности вируса для мышей. Мышей линии BALB/c весом 10–12 г под легким эфирным наркозом заражали интраназально в объеме 50 мкл дозами от 10^3 до 10^6 ЭИД₅₀/мышь. Каждой дозой вируса инфицировали группу из 5–6 мышей. Контрольной группе вводили разведенную физиологическим раствором аллантоисную жидкость без вируса. Выживаемость и вес мышей регистрировали в течение 15 сут после заражения.

Этический статус. Исследования с участием животных проводили в соответствии с «Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 18 марта 1986 г.)»⁶. Дизайн исследования одобрен этическим комитетом ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (разрешение № 4 от 2 декабря 2014 г.). Принимались все меры для облегчения страданий животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В конце августа 2022 г. в Московской области (городской округ Черноголовка, деревня Старки) произошел массовый падеж кур. Патологический материал от погибших птиц поступил в ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» для лабораторных исследований. Образцы суспензии тканей легких и почек были инокулированы в 10-суточные РКЭ через аллантоис. Методом ПЦР с обратной транскрипцией во всех пробах ВАЖ, давших положительный результат в РГА, был обнаружен вирус ньюкаслской болезни. Изоляту присвоено название NDV/chicken/Moscow/6081/2022.

Молекулярный и филогенетический анализ. В ходе исследования изолята был амплифицирован и секвенирован фрагмент гена F (438 н. о.), включающий участок, кодирующий сайт протеолиза белка F. Анализ полученной нуклеотидной последовательности, сделанный с помощью Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)⁷, показал, что изолят NDV/chicken/Moscow/6081/2022 наиболее близок к вирусам, выделенным в Иране от кур в 2011–2013 гг. (сходство 97,03–97,48% с пятью первыми последовательностями). По полученной последовательности установлено наличие в сайте протеолиза белка F исследуемого вируса нескольких основных аминокислотных остатков (аргинин/лизин) с мотивом ₁₀₉SGRRQKRF₁₁₉. Такая последовательность специфична для вирулентных штаммов на основании критериев, используемых Всемирной организацией здравоохранения животных для оценки вирулентности изолятов NDV [12].

Дополнительно получена нуклеотидная последовательность гена NP, кодирующего белок нуклеокапсида (697 н. о.). Этот ген также может косвенно влиять на вирулентность NDV. Так, нуклеотиды 546 и 555 различны для лентогенных и везогенных штаммов [16].

¹ SnapGene Viewer. Режим доступа: <https://www.snapgene.com/snapgene-viewer>.

² GenBank. Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>.

³ BioEdit. Режим доступа: <https://bioedit.software.informer.com>.

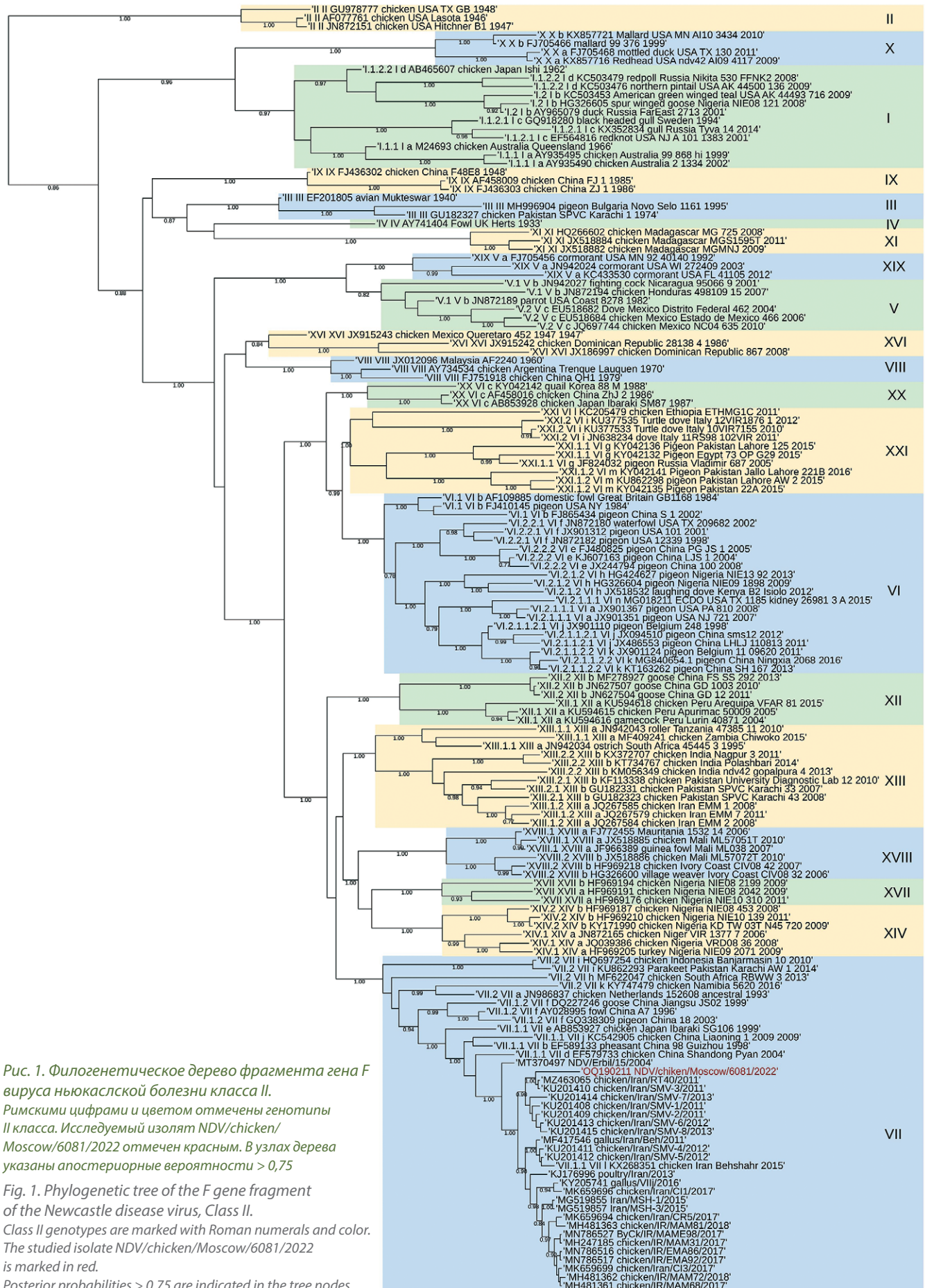
⁴ MEGA X. Режим доступа: <https://www.megasoftware.net>.

⁵ iTOL. Режим доступа: <https://itol.embl.de>.

⁶ Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.). Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/901909691>.

⁷ BLAST. Режим доступа: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>.

Tree scale: 10



По результатам секвенирования позиции 546 и 555 гена NP выделенного изолята соответствуют велогенному варианту (два тимина (Т) в позициях 546 и 555). Обе секвенированные последовательности загружены в базу данных GenBank под номерами OQ190211 и OQ190212.

Для филогенетического анализа взята выборка из репрезентативных последовательностей каждого генотипа второго класса ($n = 125$) [7], которая была объединена с последовательностью фрагмента гена F московского изолята и выборкой из 24 ближайших вирусов, определенных с помощью BLAST. Филогенетический анализ фрагмента гена F показал, что изолят NDV/chicken/Moscow/6081/2022 относится к генотипу VII класса II (рис. 1).

Генотип VII класса II возник в Азии, предположительно, в 1980-х гг. и в настоящее время широко распространен в Евразии и Африке, а также зафиксирован в Южной Америке [17–19]. Он ответственен за четвертую панзоотию ньюкаслской болезни, которая продолжается с 1980-х гг. по сегодняшний день [9]. Данный генотип включает в себя только велогенные штаммы NDV, вызывающие высокую смертность среди птиц [20].

Определение патогенности и контагиозности изолята NDV/chicken/Moscow/6081/2022 для кур. Установили, что значение MDT для 9-суточных РКЭ составляет 52 ч, что соответствует велогенному типу (до 60 ч).

Для изучения контагиозности изолята сформировали три группы по пять цыплят 6-недельного возраста. Для заражения птицам первой группы добавили в поилку 10^8 ЭИД₅₀ вируса NDV/chicken/Moscow/6081/2022. На следующий день инфицированных цыплят пересадили в клетку к особям второй группы. Клетка № 1 была удалена и продезинфицирована. Цыплята третьей группы находились в клетке № 3, расположенной в двух метрах от клеток № 1 и 2 так, что попадание частичек корма и фекалий было исключено, но воздушный поток и перенос мелкой пыли между клетками был возможен. Динамика гибели инфицированных и контактных птиц представлена на рисунке 2. Все инфицированные цыплята погибли к 5-му дню, контактные особи из второй группы пали на 6-й день, а в третьей группе цыплята начали болеть на 6–7-й день, после чего к 10-му дню погибли все. С помощью ПЦР в органах павших птиц был выявлен вирус NDV/chicken/Moscow/6081/2022.

Таким образом, контактные цыплята (группа 2) заразились от инфицированных почти сразу. Гибель цыплят из группы 3, которые непосредственно не контактировали с больными птицами, вероятно, объясняется тем, что в какой-то момент через воздушный поток заразился один цыпленок, который инициировал заражение и быструю гибель всей группы. Результат этого опыта демонстрирует очень высокую патогенность и контагиозность изолята NDV/chicken/Moscow/6081/2022 и показывает, что инфицирование происходит не только фекально-оральным, но и аэрозольным путем.

Патогенность вируса для мышей. Представители *Avulavirinae*, как правило, не патогенны для млекопитающих. Однако, учитывая исключительно высокую патогенность и контагиозность изолята NDV/chicken/Moscow/6081/2022 для кур, было решено убедиться в его безопасности для млекопитающих.

Динамика веса мышей, инфицированных интраназально вирусом NDV/chicken/Moscow/6081/2022,

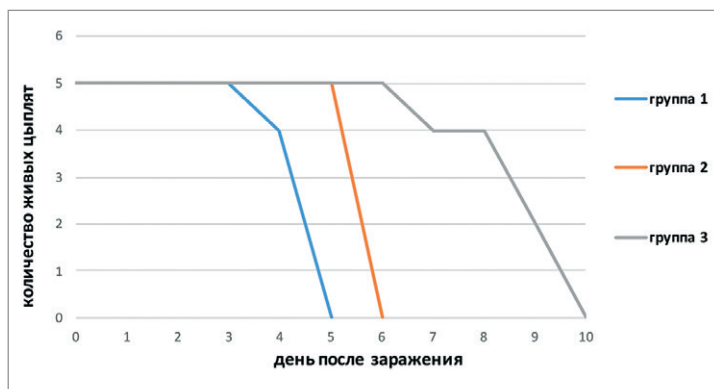


Рис. 2. Динамика гибели инфицированных и контактных цыплят

Fig. 2. Dynamics of death of infected and contact chickens

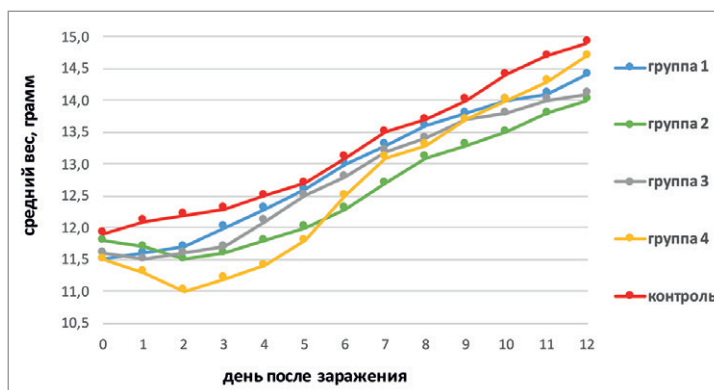


Рис. 3. Динамика веса мышей, инфицированных вирусом NDV/chicken/Moscow/6081/2022

Fig. 3. Dynamics of the mouse weight changes upon infection with NDV virus/chicken/Moscow/6081/2022

представлена на рисунке 3. Группы 1, 2, 3 и 4 были инфицированы в дозах 10^3 , 10^4 , 10^5 и 10^6 ЭИД₅₀/мышь соответственно. Контрольной группе вводили плацебо (аллантоисная жидкость без вируса, разведенная физраствором). Выживаемость и вес мышей регистрировали в течение 12 сут после заражения. В ходе опыта ни одна мышь не погибла. Как видно из рисунка 3, в группах, инфицированных высокими дозами вируса, наблюдается небольшое отставание в весе на 2–5-й день после заражения, однако к 12-му дню все мыши были практически здоровы.

Таким образом, изолят вируса ньюкаслской болезни NDV/chicken/Moscow/6081/2022 почти не патогенен для мышей, несмотря на очень высокую патогенность для цыплят.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В августе 2022 г. в частном хозяйстве Подмосковья в течение короткого времени после появления первых симптомов заболевания погибло все поголовье кур. В тканях органов погибших птиц был обнаружен вирус ньюкаслской болезни. Лабораторное исследование изолята показало высокую патогенность данного вируса для кур и отсутствие патогенности для мышей.

С помощью молекулярного анализа и теста MDT проверено несколько факторов, указывающих на отношение изолята NDV/chicken/Moscow/6081/2022 к группе велогенных NDV: наличие полиосновного сайта протеолиза белка слияния F, наличие двух аминокислот

в белке нуклеокапсида NP, характерных для высокопатогенных NDV, значение MDT – до 60 ч.

Филогенетически выделенный вирус относится к генотипу VII класса II. Данный генотип относится к «поздним» (возникшим после 1960 г.) и включает в себя вирусы только велогенного патотипа. В настоящее время чаще всего именно с ним связаны вспышки заболевания у кур в странах Азии и Ближнего Востока [21]. Его широкое распространение отчасти обосновано тем, что относящиеся к данному генотипу штаммы способны распространяться среди вакцинированного популярными коммерческими вакцинами поголовья домашних птиц [20].

В Российской Федерации NDV представляет потенциальную экономическую угрозу для птицеводческой отрасли. Согласно статистике Россельхознадзора, с 2019 г. зарегистрировано более 25 вспышек ньюкаслской болезни в различных регионах страны⁸. Данные серологических исследований показывают увеличение после 2017 г. доли иммунных особей среди диких птиц и невакцинированных домашних уток [22–25]. Для контроля распространения вируса необходимо продолжать мониторинг, а также своевременно вакцинировать домашнюю птицу в частных хозяйствах [26, 27].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Rima B., Balkema-Buschmann A., Dundon W. G., Duprex P., Easton A., Fouchier R., et al. ICTV virus taxonomy profile: *Paramyxoviridae*. *J. Gen. Virol.* 2019; 100 (12): 1593–1594. DOI: 10.1099/jgv.0.001328.
- The Negative Sense Single Stranded RNA Viruses. In: *Virus Taxonomy*. Ed. by C. M. Fauquet, M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, L. A. Ball. Academic Press; 2005; 607–738. DOI: 10.1016/B978-0-12-249951-7.50014-6.
- Alexander D. J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. Sci. Tech.* 2000; 19 (2): 443–462. DOI: 10.20506/rst.19.2.1231.
- Ganar K., Das M., Sinha S., Kumar S. Newcastle disease virus: current status and our understanding. *Virus Res.* 2014; 184: 71–81. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.02.016.
- Glickman R. L., Syddall R. J., Iorio R. M., Sheehan J. P., Bratt M. A. Quantitative basic residue requirements in the cleavage-activation site of the fusion glycoprotein as a determinant of virulence for Newcastle disease virus. *J. Virol.* 1988; 62 (1): 354–356. DOI: 10.1128/JVI.62.1.354-356.1988.
- Czeglédi A., Ujvári D., Somogyi E., Wehmann E., Werner O., Lomniczi B. Third genome size category of avian paramyxovirus serotype 1 (Newcastle disease virus) and evolutionary implications. *Virus Res.* 2006; 120 (1–2): 36–48. DOI: 10.1016/j.virusres.2005.11.009.
- Dimitrov K. M., Abolnik C., Afonso C. L., Albina E., Bahl J., Berg M., et al. Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 74:103917. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.103917.
- Beard C. W., Hanson R. P. Newcastle disease. In: *Diseases of Poultry*. Ed. by M. S. Hofstad, H. J. Barnes, B. W. Calnek, W. M. Reid, H. W. Yoder, et al. 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1984; 452–470.
- Miller P. J., Haddas R., Simanov L., Lublin A., Rehmani S. F., Wajid A., et al. Identification of new sub-genotypes of virulent Newcastle disease virus with potential panzootic features. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 29: 216–229. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.10.032.
- Karamendin K., Kydyrmanov A. Cormorants as a potentially important reservoir and carrier of Newcastle disease virus on the Asian continent. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8:648091. DOI: 10.3389/fvets.2021.648091.
- Shengqing Y., Kishida N., Ito H., Kida H., Otsuki K., Kawaoka Y., Ito T. Generation of velogenic Newcastle disease viruses from a nonpathogenic waterfowl isolate by passaging in chickens. *Virology*. 2002; 301 (2): 206–211. DOI: 10.1006/viro.2002.1539.
- Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). In: *WOAH. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2021; Chapter 3.3.14. Режим доступа: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf.
- Staden R. The Staden sequence analysis package. *Mol. Biotechnol.* 1996; 5 (3): 233–241. DOI: 10.1007/BF02900361.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35 (6): 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096.

⁸ Россельхознадзор. Режим доступа: <https://fsvps.gov.ru/>.

- Drummond A. J., Rambaut A., Shapiro B., Pybus O. G. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Mol. Biol. Evol.* 2005; 22 (5): 1185–1192. DOI: 10.1093/molbev/msi103.
- Tan S. W., Ideris A., Omar A. R., Yusoff K., Hair-Bejo M. Detection and differentiation of velogenic and lentogenic Newcastle disease viruses using SYBR Green I real-time PCR with nucleocapsid gene-specific primers. *J. Virol. Methods*. 2009; 160 (1–2): 149–156. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.05.006.
- Eid A. A. M., Hussein A., Hassanin O., Elbakrey R. M., Daines R., Sadeyen J. R., et al. Newcastle disease genotype VII prevalence in poultry and wild birds in Egypt. *Viruses*. 2022; 14 (10):2244. DOI: 10.3390/v14102244.
- Xue C., Xu X., Yin R., Qian J., Sun Y., Wang C., et al. Identification and pathotypical analysis of a novel Vlk sub-genotype Newcastle disease virus obtained from pigeon in China. *Virus Res.* 2017; 238: 1–7. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.05.011.
- Perozo F., Marcano R., Afonso C. L. Biological and phylogenetic characterization of a genotype VII Newcastle disease virus from Venezuela: efficacy of field vaccination. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (4): 1204–1208. DOI: 10.1128/JCM.06506-11.
- Pandaranga P., McAllister M. M., Peaston A. E., Ngai Y. T., Cahyono M. I., Hemmatzadeh F. Performance comparison of homologous and heterologous Newcastle disease virus in vaccines and antibody tests. *Res. Vet. Sci.* 2022; 149: 82–89. DOI: 10.1016/j.rvsc.2022.06.014.
- Miller P. J., Decanini E. L., Afonso C. L. Newcastle disease: evolution of genotypes and the related diagnostic challenges. *Infect. Genet. Evol.* 2010; 10 (1): 26–35. DOI: 10.1016/j.meegid.2009.09.012.
- Gogoi P., Ganar K., Kumar S. Avian paramyxovirus: a brief review. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (1): 53–67. DOI: 10.1111/tbed.12355.
- Волкова М. А., Чвала Ир. А., Ярославцева П. С., Сосипаторова В. Ю., Чвала И. А. Серологический мониторинг ньюкаслской болезни в России за 2017 г. *Ветеринария сегодня*. 2018; (4): 26–30. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-4-27-26-30.
- Волкова М. А., Чвала Ир. А., Осипова О. С., Кулагина М. А., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни в Российской Федерации в 2019 году. *Ветеринария сегодня*. 2020; (2): 76–82. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-76-82.
- Кулагина М. А., Волкова М. А., Чвала Ир. А., Осипова О. С., Ярославцева П. С., Андрейчук Д. Б., Чвала И. А. Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни на территории Российской Федерации в 2020 г. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 142–148. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-142-148.
- Фролов С. В., Мороз Н. В., Чвала И. А., Ирза В. Н. Эффективность вакцин против ньюкаслской болезни производства ФГУ «ВНИИЗЖ» в отношении актуальных вирусов VII генотипа. *Ветеринария сегодня*. 2021; (1): 44–51. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-44-51.
- Инструкция о мероприятиях по борьбе с ньюкаслской болезнью (псевдоочумой) птиц: утв. ГУВ МСХ СССР 09.06.1976 (с изменениями и дополнениями от 28.08.1978). Режим доступа: <http://vetorel.ru/website/img/docs/newak.pdf>.

REFERENCES

- Rima B., Balkema-Buschmann A., Dundon W. G., Duprex P., Easton A., Fouchier R., et al. ICTV virus taxonomy profile: *Paramyxoviridae*. *J. Gen. Virol.* 2019; 100 (12): 1593–1594. DOI: 10.1099/jgv.0.001328.
- The Negative Sense Single Stranded RNA Viruses. In: *Virus Taxonomy*. Ed. by C. M. Fauquet, M. A. Mayo, J. Maniloff, U. Desselberger, L. A. Ball. Academic Press; 2005; 607–738. DOI: 10.1016/B978-0-12-249951-7.50014-6.
- Alexander D. J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. Sci. Tech.* 2000; 19 (2): 443–462. DOI: 10.20506/rst.19.2.1231.
- Ganar K., Das M., Sinha S., Kumar S. Newcastle disease virus: current status and our understanding. *Virus Res.* 2014; 184: 71–81. DOI: 10.1016/j.virusres.2014.02.016.
- Glickman R. L., Syddall R. J., Iorio R. M., Sheehan J. P., Bratt M. A. Quantitative basic residue requirements in the cleavage-activation site of the fusion glycoprotein as a determinant of virulence for Newcastle disease virus. *J. Virol.* 1988; 62 (1): 354–356. DOI: 10.1128/JVI.62.1.354-356.1988.
- Czeglédi A., Ujvári D., Somogyi E., Wehmann E., Werner O., Lomniczi B. Third genome size category of avian paramyxovirus serotype 1 (Newcastle disease virus) and evolutionary implications. *Virus Res.* 2006; 120 (1–2): 36–48. DOI: 10.1016/j.virusres.2005.11.009.
- Dimitrov K. M., Abolnik C., Afonso C. L., Albina E., Bahl J., Berg M., et al. Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus. *Infect. Genet. Evol.* 2019; 74:103917. DOI: 10.1016/j.meegid.2019.103917.
- Beard C. W., Hanson R. P. Newcastle disease. In: *Diseases of Poultry*. Ed. by M. S. Hofstad, H. J. Barnes, B. W. Calnek, W. M. Reid, H. W. Yoder, et al. 8th ed. Ames: Iowa State University Press; 1984; 452–470.

9. Miller P. J., Haddas R., Simanov L., Lublin A., Rehmani S. F., Wajid A., et al. Identification of new sub-genotypes of virulent Newcastle disease virus with potential panzootic features. *Infect. Genet. Evol.* 2015; 29: 216–229. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.10.032.
10. Karamendin K., Kydyrmanov A. Cormorants as a potentially important reservoir and carrier of Newcastle disease virus on the Asian continent. *Front. Vet. Sci.* 2021; 8:648091. DOI: 10.3389/fvets.2021.648091.
11. Shengqing Y., Kishida N., Ito H., Kida H., Otsuki K., Kawaoka Y., Ito T. Generation of velogenic Newcastle disease viruses from a nonpathogenic waterfowl isolate by passing in chickens. *Virology*. 2002; 301 (2): 206–211. DOI: 10.1006/viro.2002.1539.
12. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. 2021; Chapter 3.3.14. Available at: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf.
13. Staden R. The Staden sequence analysis package. *Mol. Biotechnol.* 1996; 5 (3): 233–241. DOI: 10.1007/BF02900361.
14. Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 2018; 35 (6): 1547–1549. DOI: 10.1093/molbev/msy096.
15. Drummond A. J., Rambaut A., Shapiro B., Pybus O. G. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Mol. Biol. Evol.* 2005; 22 (5): 1185–1192. DOI: 10.1093/molbev/msi103.
16. Tan S. W., Ideris A., Omar A. R., Yusoff K., Hair-Bejo M. Detection and differentiation of velogenic and lentogenic Newcastle disease viruses using SYBR Green I real-time PCR with nucleocapsid gene-specific primers. *J. Virol. Methods*. 2009; 160 (1–2): 149–156. DOI: 10.1016/j.jviromet.2009.05.006.
17. Eid A. A. M., Hussein A., Hassanin O., Elbakrey R. M., Daines R., Sadeen J. R., et al. Newcastle disease genotype VII prevalence in poultry and wild birds in Egypt. *Viruses*. 2022; 14 (10):2244. DOI: 10.3390/v14102244.
18. Xue C., Xu X., Yin R., Qian J., Sun Y., Wang C., et al. Identification and pathotypal analysis of a novel Vlk sub-genotype Newcastle disease virus obtained from pigeon in China. *Virus Res.* 2017; 238: 1–7. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.05.011.
19. Perozo F., Marcano R., Afonso C. L. Biological and phylogenetic characterization of a genotype VII Newcastle disease virus from Venezuela: efficacy of field vaccination. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50 (4): 1204–1208. DOI: 10.1128/JCM.06506-11.
20. Pandarangga P., McAllister M. M., Peaston A. E., Ngai Y. T., Cahyono M. I., Hemmatzadeh F. Performance comparison of homologous and heterologous Newcastle disease virus in vaccines and antibody tests. *Res. Vet. Sci.* 2022; 149: 82–89. DOI: 10.1016/j.rvsc.2022.06.014.
21. Miller P. J., Decanini E. L., Afonso C. L. Newcastle disease: evolution of genotypes and the related diagnostic challenges. *Infect. Genet. Evol.* 2010; 10 (1): 26–35. DOI: 10.1016/j.meegid.2009.09.012.
22. Gogoi P., Ganar K., Kumar S. Avian paramyxovirus: a brief review. *Transbound. Emerg. Dis.* 2017; 64 (1): 53–67. DOI: 10.1111/tbed.12355.
23. Volkova M. A., Chvala I. A., Yaroslavl'tseva P. S., Sosipatorova V. Yu., Chvala I. A. Serological monitoring of Newcastle disease in Russia 2017. *Veterinary Science Today*. 2018; (4): 26–30. DOI: 10.29326/2304-196X-2018-4-27-26-30.
24. Volkova M. A., Chvala I. A., Osipova O. S., Kulagina M. A., Andreychuk D. B., Chvala I. A. Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2019. *Veterinary Science Today*. 2020; (2): 76–82. DOI: 10.29326/2304-196X-2020-2-33-76-82.
25. Kulagina M. A., Volkova M. A., Chvala I. A., Osipova O. S., Yaroslavl'tseva P. S., Andreychuk D. B., Chvala I. A. Serological monitoring of avian influenza and Newcastle disease in the Russian Federation in 2020. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 142–148. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-142-148.
26. Frolov S. V., Moroz N. V., Chvala I. A., Irza V. N. Effectiveness of vaccines produced by the Federal State-Financed Institution "ARRIAH" against topical genotype VII Newcastle disease viruses. *Veterinary Science Today*. 2021; (1): 44–51. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-1-36-44-51.
27. Instructions on control measures against Newcastle disease (pseudo-poultry plague): approved by the Chief Veterinary Department of the USSR MoA on 09 June 1976 (with amendments and additions dated back to August 28, 1978). Available at: <http://vetorel.ru/website/img/docs/newak.pdf>.

Поступила в редакцию / Received 28.02.2023

Поступила после рецензирования / Revised 29.03.2023

Принята к публикации / Accepted 11.04.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Трещалина Анастасия Андреевна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3801-2413>, e-mail: treshchalinaA@gmail.com.

Ртищев Артем Андреевич, научный сотрудник лаборатории РНК-содержащих вирусов ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-4212-5093>, e-mail: rtishchevartyom@gmail.com.

Шустова Елена Юрьевна, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-1314-0152>, e-mail: shustova_eu@chumakovs.su.

Белякова Алла Владимировна, кандидат биологических наук, ученый секретарь ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-4363-6394>, e-mail: belyakova_av@chumakovs.su.

Гамбарян Александра Сергеевна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-1892-0548>, e-mail: al.gambaryan@gmail.com.

Боравлева Елизавета Юрьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии вирусов ФГАНУ «ФНЦИРИП им. М. П. Чумакова РАН» (Институт полиомиелита), г. Москва, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-8491-4640>, e-mail: elisavetbor@gmail.com.

Anastasiya A. Treshchalina, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, FSAS "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3801-2413>, e-mail: treshchalinaA@gmail.com.

Artem A. Rtishchev, Researcher, Laboratory of RNA-containing Viruses, I. Mechnikov NIIVS, Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-4212-5093>, e-mail: rtishchevartyom@gmail.com.

Elena Yu. Shustova, Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, FSAS "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-1314-0152>, e-mail: shustova_eu@chumakovs.su.

Alla V. Belyakova, Candidate of Science (Biology), Scientific Secretary, FSAS "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-4363-6394>, e-mail: belyakova_av@chumakovs.su.

Aleksandra S. Gambaryan, Doctor of Science (Biology), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, FSAS "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-1892-0548>, e-mail: al.gambaryan@gmail.com.

Elizaveta Yu. Boravleva, Candidate of Science (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Viruses, FSAS "Chumakov FSC R&D IBP RAS" (Institute of Poliomyelitis), Moscow, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-8491-4640>, e-mail: elisavetbor@gmail.com.



Динамика сезонной заболеваемости животных бешенством в Азербайджане

Ч. В. Алиева¹, Ш. К. Зейналова²

¹ Азербайджанский институт безопасности пищевых продуктов, г. Баку, Азербайджанская Республика

² Центральная референс-лаборатория 3-го уровня биобезопасности, Министерство сельского хозяйства Азербайджана, г. Баку, Азербайджанская Республика

РЕЗЮМЕ

На сегодняшний день одной из важнейших проблем как здравоохранения, так и ветеринарии является растущее количество очагов рабической инфекции. Эпидемиолого-эпизоотическая значимость бешенства определяется абсолютной летальностью при условии проявления клинических признаков, повсеместным распространением, латентным инкубационным периодом и отсутствием средств специфического лечения. В Азербайджане бешенство является эндемичным заболеванием, основным источником вируса считаются дикие плотоядные животные, бродячие собаки и кошки, обуславливающие природный тип инфекции в республике. Обычно динамика естественных случаев бешенства имеет сезонную изменчивость. Как правило, число случаев заболевания увеличивается осенью, зимой и весной, что связано с биологией основных переносчиков болезни и природно-климатическими условиями региона. Основной целью исследования было изучение распространения бешенства на территории Азербайджана в разные сезоны года. Для этого были собраны статистические данные за последние 4 года (2018–2021 гг.) с учетом заболеваемости животных по месяцам и сезонам. Установлено, что случаи заболевания бешенством чаще всего регистрировались в период с марта по май: в 2018 г. – 21 (31%), в 2019 г. – 24 (38%), в 2021 г. – 8 (40%). Исключение составил 2020 г., когда пик заболеваемости пришелся на декабрь – февраль. Для оценки эпизоотологических и эпидемиологических рисков возникновения бешенства в стране была изучена частота встречаемости заболевания среди животных разных видов по годам. Показано, что наибольшее количество случаев бешенства (54%) было выявлено среди собак. На долю крупного рогатого скота приходилось 38,1% случаев, 5,7% позитивных проб составляли образцы от бездомных собак, 1,6% – от овец, 0,6% – от лошадей. Результаты исследований показали, что заболевание бешенством животных на территории Азербайджанской Республики имеет четко выраженную сезонность.

Ключевые слова: бешенство, эпизоотическая ситуация, сезонность, заболеваемость, динамика

Для цитирования: Алиева Ч. В., Зейналова Ш. К. Динамика сезонной заболеваемости животных бешенством в Азербайджане. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 154–157. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-154-157.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Зейналова Шалала Карам, кандидат аграрных наук, доцент, директор Центральной референс-лаборатории 3-го уровня биобезопасности, Министерство сельского хозяйства Азербайджана, AZ1122, Республика Азербайджан, г. Баку, Ясамальский район, ул. А. М. Шарифзаде, 196, e-mail: zeynalovaeddm@gmail.com.

Dynamics of seasonal rabies incidence in animals in Azerbaijan

Ch. V. Aliyeva¹, Sh. K. Zeynalova²

¹ Azerbaijan Food Safety Institute, Baku, Republic of Azerbaijan

² Central Veterinary Reference Laboratory, Ministry of Agriculture of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan

SUMMARY

The increasing number of rabies outbreaks is currently one of the most important challenges in both human and animal health. The epidemiological and epizootic significance of rabies is determined by its absolute lethality in case of clinical manifestations, as well as global spread, latent incubation period and lack of specific treatment. Rabies is endemic in Azerbaijan; wild carnivores, stray dogs and cats determining the natural type of rabies are considered the main source of infection in the Republic. The dynamics of rabies natural cases has seasonal variability. As a rule, the number of disease cases increases in autumn, winter and spring, which is associated with the biological characteristics of the main disease vectors and the climatic conditions in the region. The main purpose of the study was to investigate the spread of rabies in Azerbaijan in different seasons of the year. For this purpose, the statistical data were collected based on animal incidence by month and season for the last four years (2018–2021). It was found that rabies cases were most often identified in the period from March to May: in 2018 – 21 (31%) cases, in 2019 – 24 (38%) cases, in 2021 – 8 (40%) cases. The exception was 2020, when the majority of rabies cases occurred in December – February. To assess the epizootological and epidemiological risks of rabies in the country, the disease frequency rate among various animal species was studied by year. The largest number of rabies cases (54%) was shown to be detected among dogs. Cattle accounted for 38.1% of cases, 5.7% of positive samples were derived from stray dogs, 1.6% – from sheep, 0.6% – from horses. The study results have shown that animal rabies exhibits a clearly pronounced seasonal pattern in the Republic of Azerbaijan.

Keywords: rabies, epizootic situation, seasonality, incidence, dynamics

For citation: Aliyeva Ch. V., Zeynalova Sh. K. Dynamics of seasonal rabies incidence in animals in Azerbaijan. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 154–157. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-154-157.

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

For correspondence: Karam Sh. Zeynalova, Candidate of Science (Agriculture), Associate Professor, Director of the Central Veterinary Reference Laboratory, Ministry of Agriculture of the Republic of Azerbaijan, AZ1122, Republic of Azerbaijan, Baku, Yasamal district, ul. A. M. Sharifzade, 196, e-mail: zeynalovaeddm@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) и другие международные организации определили своей целью искоренение к 2030-му году смертности людей от бешенства, опосредованного собаками. Несмотря на подробную информацию о таком опасном заболевании, как бешенство, в средствах массовой информации, все же существует потребность в расширении осведомленности населения [1–4].

Человек, как правило, заражается в результате укуса инфицированного вирусом бешенства животного, чаще всего собаки, кошки, кролика, хорька, лисицы, волка, енота, летучей мыши и др. [5–7].

В Азербайджане бешенство является эндемичным заболеванием, случаи возникновения которого подлежат обязательной регистрации на территории всей страны. Дикие плотоядные животные, бродячие собаки и кошки считаются основным источником вируса и обуславливают природный тип бешенства в республике [8]. Характеристики популяций бродячих собак (плотность, динамика роста и т. д.), которые чаще всего являются причиной заражения людей, неизвестны [9–11]. Поэтому проведение научных и эпидемиологических исследований имеет важное значение для контроля болезни [12–14].

В данное время в Азербайджане имеется большое количество бездомных собак. Ежегодно регистрируются случаи заражения бешенством животных, которые нападают на людей. При этом основным этиологическим фактором являются укусы бродячих собак [14–16]. Текущая программа управления популяцией этих животных заключается в проведении стерилизации и вакцинации против бешенства. Поскольку в Азербайджане принята «Европейская конвенция о защите домашних животных»¹, убийство животных запрещено. Поэтому очень важно контролировать распространение зоонозных заболеваний (в первую очередь бешенства) в стране, а также популяции бездомных и одичавших собак, несущих ряд проблем, имеющих социально-экономические, религиозные, экологические и политические последствия [3, 9, 15].

В Азербайджане проведено недостаточно исследований по оценке рисков распространения возбудителя. Помимо того, что бродячие собаки в населенных пунктах республики являются основной причиной заражения людей, зонами риска считаются лесные массивы в районах, граничащих с другими странами. В Азербайджане в рамках реализации мероприятий по ликвидации болезни проводятся эпизоотологический мониторинг, лабораторная диагностика, иммунизация и информирование населения [17, 18].

По информации Министерства здравоохранения Азербайджана, в 2016 г. зарегистрировано 18 702 случая укусов животными людей, в 2017 г. – 18 470, в 2018 г. – 31 060, в 2019 г. – 40 234 и в 2020 г. зафиксиро-

ван 21 671 случай. Согласно данным Центра надзора за особо опасными инфекциями, в 2016 г. от бешенства умерло 7 человек, в 2017 г. – 3, в 2018 г. – 5, в 2019 г. – 5, в 2020 г. – 2. Несмотря на принимаемые меры, проблема заболеваемости бешенством все еще остается актуальной, поэтому необходимо проводить анализ рисков распространения возбудителя рабической инфекции.

Основной целью данного исследования было изучение динамики распространения бешенства животных в зависимости от сезона. Для этого были проанализированы статистические данные о случаях заболевания животных в республике за период с 2018 по 2021 г.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Факторами, существенно влияющими на распространение болезней диких животных, считаются сезонные изменения численности популяций, поведения и физиологических показателей животных [19, 20]. Понимание основных механизмов и прогнозирование сезонного распространения таких болезней животных, как бешенство, имеет решающее значение для реализации и оптимизации стратегий борьбы с ними [21, 22]. Для определения сезонной динамики бешенства были собраны статистические данные за последние 4 года (2018–2021 гг.) с учетом заболеваемости животных по месяцам и сезонам. На основании данных, предоставленных Национальной ветеринарной лабораторией, рассчитаны показатели заболеваемости бешенством разных видов животных за указанный период.

Лабораторная диагностика бешенства осуществляется на основании Руководства по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных Всемирной организации здравоохранения животных (ВОЗЖ)². Идентификация возбудителя проводится с использованием метода флуоресцирующих антител (FAT, Fluorescent Antibody Test), который является скрининговым. Положительные пробы подтверждаются с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В таблице представлены данные по заболеваемости бешенством среди животных за последние 4 года (2018–2021 гг.) в зависимости от сезона.

Установлено, что случаи заболевания бешенством чаще всего регистрировались в период с марта по май: 21 (31%) – в 2018 г., 24 (38%) – в 2019 г., 8 (40%) – в 2021 г. Исключение составил 2020 г., когда наибольшее количество случаев пришлось на зимние месяцы (декабрь – февраль): получено 17 положительных результатов, что составило 59%.

На рисунке 1 отражены результаты исследования 241 пробы головного мозга, поступившей в лабораторию от животных с подозрением на бешенство в 2018–2021 гг. Из них 180 являлись положительными,

¹ Европейская конвенция о защите домашних животных (ETS № 125). Режим доступа: <https://www.coe.int/tu/web/conventions/by-member-states-of-the-council-of-europe?module=treaty-detail&treatynum=125>.

² Rabies (infection with rabies virus and other lyssaviruses). In: WOA. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.1.18. Режим доступа: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.18_RABIES.pdf.

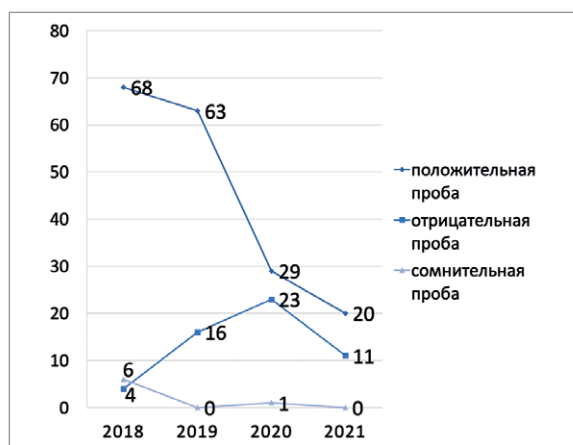


Рис. 1. Исследование проб головного мозга, поступивших в лабораторию от животных с подозрением на бешенство в период с 2018 по 2021 г.

Fig. 1. Brain samples of suspected rabies cases submitted to the laboratory in 2018–2021

54 – отрицательными, 7 образцов были испорчены и не подлежали исследованию из-за несвоевременной доставки в лабораторию.

Для оценки эпизоотологических и эпидемиологических рисков возникновения бешенства в стране была изучена частота встречаемости заболевания среди животных разных видов по годам (рис. 2). Статистический материал, предоставленный Национальной ветеринарной лабораторией, был проанализирован и представлен в виде графика, на котором отражена информация о случаях выявления бешенства среди разных видов животных за период с 2018 по 2021 г.

Всего за рассматриваемый период из 180 положительных результатов в сезон с декабря по май наибольшее количество случаев заболевания бешенством (54%) было выявлено среди собак. На долю

Таблица
Динамика заболеваемости бешенством среди животных в зависимости от сезона в 2018–2021 гг.

Table
Dynamics of seasonal rabies incidence in animals in 2018–2021

Год	Количество случаев заболевания бешенством				
	декабрь – февраль	март – май	июнь – август	сентябрь – ноябрь	всего
2018	16	21	17	14	68
2019	18	24	8	13	63
2020	17	5	3	4	29
2021	4	8	4	4	20
Всего	55	58	32	35	180

крупного рогатого скота (КРС) приходилось 38,1% случаев, 5,7% положительных проб составляли образцы от бездомных собак, 1,6% – от овец, 0,6% – от лошадей.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из общепринятых представлений, эпизоотиям природного бешенства свойственна сезонная изменчивость. Как правило, число случаев заболевания увеличивается осенью, зимой и весной [24–26]. Наибольшая частота случаев бешенства в нашем исследовании была выявлена в период с декабря по май 2018–2021 гг. Есть вероятность, что это связано с началом репродуктивного сезона летучих мышей [27]. Можно отметить, что снижение количества случаев бешенства в 2020–2021 гг. совпадает с проведением широкомасштабных кампаний по вакцинации домашних собак [18]. Для разработки эффективной стратегии борьбы с бешенством выявленная тенденция сезонной заболеваемости требует дальнейшего изучения.

Другими предполагаемыми причинами сезонных колебаний заболеваемости животных инфекционными

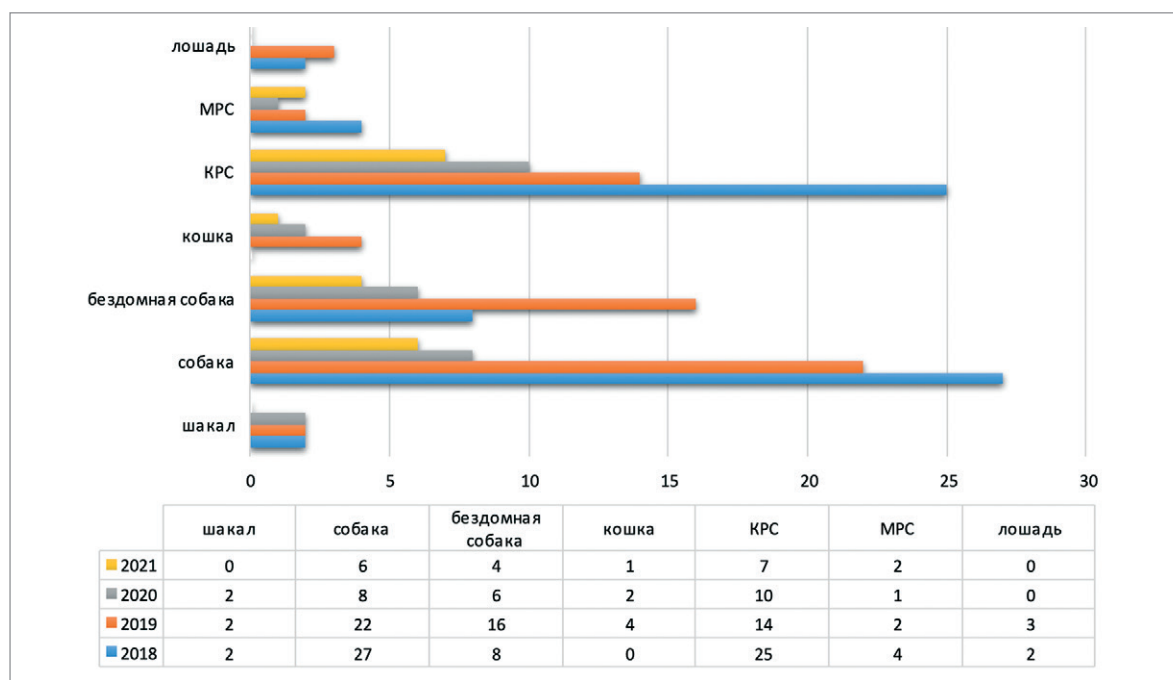


Рис. 2. Количество случаев заболевания бешенством среди разных видов животных за период с 2018 по 2021 г.

Fig. 2. Incidence of rabies in different animal species in 2018–2021

болезнями являются климатические условия, периодичность циклов размножения, миграции и недостатка пищи [22]. Хотя у домашних собак нет сезонных периодов размножения, при определенных условиях половая активность в течение года может иметь волнообразный характер [28].

Анализ эпизоотологических данных и результатов лабораторных исследований позволил установить характер сезонности бешенства в Азербайджане. Выявлена помесечная динамика заболеваемости с наибольшими показателями в период с декабря по май и наименьшими – с июня по сентябрь. Эти результаты согласуются с рекомендациями по срокам профилактической антирабической вакцинации домашних собак [18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований показали, что заболевание животных бешенством на территории Азербайджанской Республики имеет четко выраженную сезонность. Установлено, что за анализируемый период наибольшее количество случаев бешенства животных регистрировали в весенние месяцы, что в первую очередь может быть связано с сезоном размножения животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Zero by 30: the global strategic plan to end human deaths from dog-mediated rabies by 2030. Geneva: WHO; FAO; WOA; 2018. Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/272756>.
2. Ichhpurani R. L., Mala C., Veena M., Singh J., Bhardwaj M., Bhattacharya D., et al. Epidemiology of animal bites and rabies cases in India. A multi-centric study. *J. Commun. Dis.* 2008; 40 (1): 27–36. PMID: 19127666.
3. Narrod C., Zinsstag J., Tongco M. A one health framework for estimating the economic costs of zoonotic diseases on society. *Ecohealth*. 2012; 9 (2): 150–162. DOI: 10.1007/s10393-012-0747-9.
4. Dobson A. Population dynamics of pathogens with multiple host species. *Am. Nat.* 2004; 164 (Suppl 5): S64–78. DOI: 10.1086/424681.
5. Knobel D. L., Lembo T., Mesters M., Townsend S. E., Cleaveland S., Hampson K. Dog rabies and its control. In: *Rabies: Scientific basis of the disease and its management*. Ed. by A. Jackson. 3rd ed. Academic Press; 2013; Chapter 17: 591–615. DOI: 10.1016/B978-0-12-396547-9.00017-1.
6. Jyoti, Goel M. K., Vashisht B. M., Khanna P. Pattern and burden of animal bite cases in a tertiary care hospital in Haryana. *J. Commun. Dis.* 2010; 42 (3): 215–218. PMID: 22471186.
7. Najar H., Streinu-Cercel A. Epidemiological management of rabies in Romania. *Germs*. 2012; 2 (3): 95–100. DOI: 10.1159/germs.2012.1019.
8. Zeynalova S., Shikhiyev M., Aliyeva T., Ismayilova R., Wise E., Abdullayev R., et al. Epidemiological characteristics of human and animal rabies in Azerbaijan. *Zoonoses Public Health*. 2015; 62 (2): 111–118. DOI: 10.1111/zph.12119.
9. Abela-Ridder B., Martin S., Gongal G., Engels D. Rabies vaccine stockpile: fixing the supply chain. *Bull. World Health Organ.* 2016; 94 (9): 635–635A. DOI: 10.2471/BLT.16.183012.
10. Burgos-Caceres S. Canine rabies: A looming threat to public health. *Animals (Basel)*. 2011; 1 (4): 326–342. DOI: 10.3390/ani1040326.
11. Jain M., Prakash R., Garg K., Jain R., Choudhary M. Epidemiology of animal bite cases attending anti-rabies clinic of a Tertiary Care Centre in Southern Rajasthan. *J. Res. Med. Den. Sci.* 2015; 3 (1): 79–82. DOI: 10.5455/jrmds.20153117.

12. Hossain M., Bulbul T., Ahmed K., Ahmed Z., Salimuzzaman M., Haque M. S., et al. Five-year (January 2004 – December 2008) surveillance on animal bite and rabies vaccine utilization in the Infectious Disease Hospital, Dhaka, Bangladesh. *Vaccine*. 2011; 29 (5): 1036–1040. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.11.052.
13. Simon A., Tardy O., Hurford A., Lecomte N., Bélanger D., Leighton P. A. Dynamics and persistence of rabies in the Arctic. *Polar Research*. 2019; 38:3366. DOI: 10.33265/polar.v38.3366.
14. Sudarshan M. K., Madhusudana S. N., Mahendra B. J., Rao N. S., Ashwath Narayana D. H., Abdul Rahman S., et al. Assessing the burden of human rabies in India: results of a national multi-center epidemiological survey. *Int. J. Infect. Dis.* 2007; 11 (1): 29–35. DOI: 10.1016/j.ijid.2005.10.007.
15. Kulkarni S. K. Trend of animal bite victims reported to anti rabies vaccination clinic at a tertiary care hospital Nanded Maharashtra. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 2016; 15 (11): 36–39.
16. Fekadu M., Shaddock J. H., Baer G. M. Excretion of rabies virus in the saliva of dogs. *J. Infect. Dis.* 1982; 145 (5): 715–719. DOI: 10.1093/infdis/145.2.715.
17. Hasanov E. Rabies control measures in Azerbaijan: survey of stray dog population in Baku. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*. 2021; 5 (2): 70–77.
18. Peyvandloma. Режим доступа: <http://www.axa.gov.az/uploads/files/services/peyven-1666351306.pdf>. (in Azerbaijani)
19. Hampson K., Coudeville L., Lembo T., Sambo M., Kieffer A., Atlan M., et al. Estimating the global burden of endemic canine rabies. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2015; 9 (4): e0003709. DOI: 10.1371/journal.pntd.0003709.
20. Ботвинкин А. Д., Зарва И. Д., Мельцов И. В., Чупин С. А., Полежаев Е. М., Зиняков Н. Г. и др. Возвращение бешенства после многолетнего межэпизоотического периода (Амурская область, Россия). *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (4): 309–318. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-309-318.
21. Botvinkina A. D., Zarva I. D., Meltsov I. V., Chupin S. A., Poleshchuk E. M., Zinyakov N. G. et al. Rabies re-emergence after long-term disease freedom (Amur Oblast, Russia). *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (4): 309–318. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-4-309-318.
22. McGettigan J. P., Pomerantz R. J., Siler C. A., McKenna P. M., Foley H. D., Dietzschold B., Schnell M. J. Second-generation rabies virus-based vaccine vectors expressing human immunodeficiency virus type 1 gag have greatly reduced pathogenicity but are highly immunogenic. *J. Virol.* 2003; 77 (1): 237–244. DOI: 10.1128/jvi.77.1.237-244.2003.
23. Altizer S., Dobson A., Hosseini P., Hudson P., Pascual M., Rohani P. Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecol. Lett.* 2006; 9 (4): 467–484. DOI: 10.1111/j.1461-0248.2005.00879.x.
24. Medeiros R., Jusot V., Houillon G., Rasuli A., Martorelli L., Kataoka A. P., et al. Persistence of rabies virus-neutralizing antibodies after vaccination of rural population following vampire bat rabies outbreak in Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2016; 10 (9): e0004920. DOI: 10.1371/journal.pntd.0004920.
25. Wallace R. M., Undurraga E. A., Blanton J. D., Cleaton J., Franka R. Elimination of dog-mediated human rabies deaths by 2030: needs assessment and alternatives for progress based on dog vaccination. *Front. Vet. Sci.* 2017; 4:9. DOI: 10.3389/fvets.2017.00009.
26. Acharya K. P., Acharya N., Phuyal S., Upadhyaya M., Lasee S. One-health approach: a best possible way to control rabies. *One Health*. 2020; 10:100161. DOI: 10.1016/j.onehlt.2020.100161.
27. Fuglei E., Ims R. A. Global warming and effects on the Arctic fox. *Sci. Prog.* 2008; 91 (Pt 2): 175–191. DOI: 10.3184/003685008X327468.
28. Hasanov N. A., Guliyeva G. G. New research directions of bats in Azerbaijan – bats as a potential reservoir of some zoonotic diseases. *Journal of Life Sciences & Biomedicine*. 2020; 75 (2): 94–100. DOI: 10.29228/jlsb.67.
29. Lord K., Feinstein M., Smith B., Coppinger R. Variation in reproductive traits of members of the genus *Canis* with special attention to the domestic dog (*Canis familiaris*). *Behav. Processes*. 2013; 92: 131–142. DOI: 10.1016/j.beproc.2012.10.009.

Поступила в редакцию / Received 20.02.2023

Поступила после рецензирования / Revised 20.03.2023

Принята к публикации / Accepted 05.04.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Алиева Чичак Вели, докторант, главный специалист, Азербайджанский институт безопасности пищевых продуктов, г. Баку, Азербайджанская Республика;
<https://orcid.org/0000-0002-7726-9396>,
e-mail: ciceksuleymanova3@gmail.com.

Зейналова Шалала Карам, кандидат аграрных наук, доцент, директор Центральной референс-лаборатории 3-го уровня биобезопасности, Министерство сельского хозяйства Азербайджана, Баку, Азербайджанская Республика;
<https://orcid.org/0000-0002-5563-3396>,
e-mail: zeynalovaeddm@gmail.com.

Chichak V. Aliyeva, Doctoral Student, Chief Specialist, Azerbaijan Food Safety Institute, Baku, Republic of Azerbaijan;
<https://orcid.org/0000-0002-7726-9396>,
e-mail: ciceksuleymanova3@gmail.com.

Shalala K. Zeynalova, Candidate of Science (Agriculture), Associate Professor, Director of the Central Veterinary Reference Laboratory, Ministry of Agriculture of the Republic of Azerbaijan, Baku, Republic of Azerbaijan;
<https://orcid.org/0000-0002-5563-3396>,
e-mail: zeynalovaeddm@gmail.com.



Разработка способа глубинного культивирования вакцинного штамма *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*

О. Г. Лаптева

ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии» (ФГБНУ ФИЦВиМ), пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия

РЕЗЮМЕ

Представители рода *Mycoplasma* широко распространены в природе (почве, воде, навозе, злаках, пищевых продуктах), среди них имеются виды, патогенные для человека, животных и птиц. К группе особо опасных инфекционных болезней отнесена контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота, возбудителем которой является *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. В настоящее время риск заноса возбудителя инфекции на территорию России с импортным скотом и сырьем из неблагополучных регионов сохраняется. В связи с этим совершенствование технологии изготовления вакцины против контагиозной плевропневмонии является актуальной задачей. Целью данного исследования явилась разработка глубинного способа культивирования вакцинного штамма *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. Данный метод позволяет получать за короткий промежуток биомассу в больших объемах и упрощает технологию изготовления биопрепаратов. В процессе работы изучена динамика накопления биомассы микоплазмы при безопорном методе культивирования. Наглядно продемонстрированы 4 фазы роста бактерии. В первые двое суток выращивания отмечали незначительное снижение концентрации микробных клеток, третьи – четвертые сутки характеризовались увеличением биомассы на несколько порядков от $2,5 \times 10^8$ до $4,5 \times 10^9$ клеток в единице объема, на 5-е сутки концентрация находилась в равновесном положении, и начиная с 6-х суток регистрировали наступление фазы гибели микроорганизма. Аналогичная динамика прослеживалась и при культивировании в биореакторе. При визуализации микоплазмы, полученной при выращивании глубинным способом, на твердой питательной среде наблюдали единичные колонии или их скопления, имеющие вид яичницы-глазуньи. Таким образом, используя безопорный метод культивирования и такие параметры, как засев микоплазмы в дозе 10^5 микробных клеток в единице объема, объем заполнения на 2/3, температура инкубирования ($37 \pm 0,5$) °C, перемешивание при 90 об/мин, а также применение синтетической питательной среды бактерия накапливается в титре 10^9 клеток в единице объема.

Ключевые слова: *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*, контагиозная плевропневмония крупного рогатого скота, культивирование, фазы роста

Благодарности: Автор выражает признательность заместителю директора по производству и качеству биопрепаратов (ФГБНУ ФИЦВиМ) А. В. Луницину. Работа выполнена в рамках государственного задания.

Для цитирования: Лаптева О. Г. Разработка способа глубинного культивирования вакцинного штамма *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 158–163. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-158-163.

Конфликт интересов: Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Лаптева Оксана Георгиевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории «Лекарственные средства для животных» ФГБНУ ФИЦВиМ, 601125, Россия, Владимирская обл., Петушинский р-н, пос. Вольгинский, ул. Академика Бакулова, стр. 1, e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru.

Development of submerged cultivation method for vaccine *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* strain

O. G. Lapteva

Federal Research Center for Virology and Microbiology (FRCVM), Volginsky, Vladimir Oblast, Russia

SUMMARY

Members of *Mycoplasma* genus are widely spread in nature (soil, water, manure, cereals, food products), and there are ones pathogenic for humans, animals and birds. The group of highly dangerous diseases include contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) caused by *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. Risk of the disease agent introduction to Russia with imported livestock and raw materials still remains. Therefore, of topical importance is the improvement of the CBPP vaccine manufacturing technology. The studies were aimed at the development of the method of the submerged cultivation of the vaccine *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* strain. This method allows production of a large amount of the biological material and simplification of the biological product manufacturing technology. Dynamics of the mycoplasma mass accumulation during the submerged cultivation was examined within the studies. Four phases of the bacterial growth were clearly demonstrated. Insignificant decrease of the microbial cell concentration was reported in the first two days of cultivation; days 3 and 4 were specified by the increase of the microbial mass concentration by several orders of magnitude: from 2.5×10^8 to 4.5×10^9 cells/volume unit, on day 5 the concentration was in equilibrium and starting from day 6 the onset of the microorganism's death phase was reported. Similar dynamics was demonstrated during cultivation in the bioreactors. Singular fried egg-shaped colonies or their accumulations were observed at the visual examination of the submerged cultivated mycoplasma. Therefore, when using submerged cultivation method and such parameters as mycoplasma seeding at a dose of 10^5 microbial cells / volume unit; 2/3 filling volume; incubation at (37 ± 0.5) °C; agitation at 90 rpm and use of synthetic nutrient medium, the bacterium accumulates at the titre of 10^9 cell/volume unit.

Keywords: *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*, contagious bovine pleuropneumonia, cultivation, growth phases

Acknowledgements: The author expresses gratitude to A. V. Lunitsyn, Deputy Head for Biological Product Manufacture and Quality (FGBRI FRCVM). The works have been completed under the state assignment.

For citation: Lapteva O. G. Development of submerged cultivation method for vaccine *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* strain. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 158–163. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-158-163.

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

For correspondence: Oksana G. Lapteva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Veterinary Medicinal Products, FRCVM, 601125, Russia, Vladimir Oblast, Petushinsky District, Volginsky, ul. Akademika Bakulova, str. 1, e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru.

ВВЕДЕНИЕ

В процессе производства бактериальных препаратов используется большое количество биомассы, которую получают с применением глубинного метода культивирования. Этот метод был внедрен в практику Н. Е. Лебедевым в 1950 г. Ученый доказал возможность выращивания бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в реакторах, применяя принудительную аэрацию и перемешивание [1].

Использование данного способа позволило достичь значительных успехов в развитии технологий производства биопрепаратов в промышленных объемах [2]. Например, были усовершенствованы технологии выращивания тулярийного микроба [3], бактерий *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* для производства пробиотиков [4] и т. д.

При глубинном культивировании микробные клетки выращивают в жидкой питательной среде в специальных аппаратах – ферментерах различных модификаций. Емкость снабжена разнообразной по конфигурации мешалкой с регулируемым числом оборотов, датчиками температуры, pO_2 , pH и уровня пены, показания которых выводятся на табло компьютера. Снаружи имеются порты отбора проб и другие устройства [5].

При культивировании микроорганизмов глубинным способом применяют жидкие питательные среды. В таком физическом состоянии они облегчают доступ бактериям к питательным веществам, легко перемешиваются при инкубировании, что обеспечивает обновление питательных веществ для культуры [6].

Такие бактерии, как микоплазмы, крайне требовательны к средам выращивания. В естественных условиях они находятся в тесном контакте с клеткой хозяина, получая все необходимые вещества в готовом виде для своего развития. Поверхностные мембраны микоплазм и клетки организма имеют почти одинаковую структуру, в результате чего возникает тесный мембранный контакт по типу «растворения» друг в друге. Это взаимодействие облегчает транспорт необходимых питательных материалов для микоплазмы из цитоплазмы клетки хозяина. Такое сотрудничество привело к тому, что данный микроорганизм в процессе эволюции утратил гены, кодирующие эти вещества. Поэтому искусственные питательные среды для культивирования микоплазм должны содержать сложные компоненты, необходимые для их выращивания. Белковую основу в среде составляет вытяжка из бычьего

сердца или пептона. В 70-е гг. XX века наибольшее признание получили среды, основа которых состояла из пептона Мартена и бульона из сердца крупного рогатого скота. В качестве ростового фактора и источника витаминов группы В используют дрожжевой экстракт. Источником стеролов служит сыворотка лошади, реже свиньи, которую добавляют в большом количестве. Сыворотку крови крупного рогатого скота не используют, так как она способна задерживать рост некоторых видов микоплазм [7]. Так, для культивирования *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae* применяют сыворотку крови свиней, которая обеспечивает получение биомассы данных микоплазм на модифицированной питательной среде Фрея [8]. Источником энергии служат глюкоза, L-аргинин или мочевины [9].

Большинство микоплазм являются факультативными паразитами или комменсалами животных и растений. Объекты паразитирования микоплазм весьма обширны – начиная от растений и заканчивая млекопитающими (включая человека). Существуют виды микоплазм, патогенные для человека, животных и птиц. К ним следует отнести *M. mycoides* – возбудитель пневмонии крупного и мелкого рогатого скота, *M. agalactiae* – возбудитель ревматоидного синдрома мелкого рогатого скота, *M. pneumoniae* – возбудитель острых респираторных заболеваний и первичной атипичной пневмонии человека, обладающий высокой гемолитической активностью [10].

Среди микоплазм следует выделить *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*, вызывающую такое высококонтагиозное заболевание крупного рогатого скота, как контагиозная плевропневмония. Болезнь характеризуется лихорадкой, фибринозной интерстициальной пневмонией, серозно-фибринозным плевритом с последующим образованием анемических некрозов и секвестров в легких, скоплением большого количества экссудата в грудной полости [11–13].

Болезнь оценивается мировым сообществом как особо опасная и входит в список notiфицируемых инфекций Всемирной организации охраны здоровья животных (WOAH). Также это заболевание является трансграничным, при распространении которого возможны серьезные последствия на национальном уровне. Ежегодные экономические потери при контагиозной плевропневмонии в странах Африканского континента составляют 30 млн евро [14–16].

В конце XIX – начале XX века это заболевание было распространено в странах Европы, Азии, Африки и в Австралии. Введение жестких ветеринарных мер в различных государствах способствовало ликвидации заболевания во многих частях земного шара. В естественных условиях указанный патоген поражает только жвачных животных, главным образом крупный рогатый скот и зебу. Контагиозная плеввропневмония у крупного рогатого скота проявляется в виде изменения общего состояния организма (отсутствия аппетита, лихорадки) и наличия респираторных признаков (одышки, полипноэ, кашля и выделений из носа). Чаще всего болезнь регистрируют в подострой и бессимптомной форме. В случаях хронической формы без проявления клинических признаков животные являются наиболее опасными в отношении распространения инфекции [17].

Российская Федерация – первая из стран ЕАЭС, которая в 2020 г. включена ВОАН в список из 20 стран, официально благополучных по контагиозной плеввропневмонии крупного рогатого скота (все члены ВОАН являются 182 страны мира). В настоящее время основное внимание сосредоточено на предотвращении заноса возбудителя болезни на территорию нашей страны с импортным скотом и сырьем из неблагополучных регионов [18].

В связи с этим должна быть разработана технология изготовления вакцины, в процессе производства которой существуют критические контрольные точки. Для культивирования микоплазм применяют такие обогащенные питательные среды, как F₆₆ и Gourlay, что, в свою очередь, ведет к возможности бактериальной контаминации (неумышленной контаминации). Использование антибиотиков на стадии приготовления среды крайне затруднительно ввиду высокой чувствительности к ним микоплазм (кроме пенициллинов и сульфаниламидов). Данный микроорганизм требователен к pH среды, поэтому при ее приготовлении водородный показатель устанавливают в пределах 7,8–8,0. Однако в процессе культивирования pH быстро снижается, что оказывает влияние на урожай микоплазм и сохранность бактерии вне условий культивирования [18].

Таким образом, технология культивирования микоплазм имеет ряд сложностей, которым необходимо уделить особое внимание, а использование глубинного метода культивирования бактерий в биотехнологии является актуальным.

Целью данного исследования явилась разработка глубинного метода культивирования вакцинного штамма *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали вакцинный штамм «МАНВНИИВВиМ» *Mycoplasma mycoides subsp. mycoides*. Используемый штамм бактерии получали из «Государственной коллекции микроорганизмов, вызывающих опасные, особо опасные, в том числе зооантропонозные и не встречающиеся на территории страны болезни животных» (реестровый номер ЦКП – 441429)¹.

Питательные среды: питательный бульон и питательный агар (Oxoid Ltd., Великобритания), дрожжевой

экстракт (Sanofi Diagnostics Pasteur, Франция) и сыворотка лошади (ООО «БиолоТ», Россия). Питательные среды готовили по рекомендованным производителем прописям. Среда стерилизовали автоклавированием при 121 °C в течение 15 мин.

Оборудование: биореактор 5-литрового объема (NBS, США), шейкер. В условиях шейкера-инкубатора культивирование проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 см³ с внесением 50 см³ питательной среды. Выращивание в ферментере осуществляли с автоматическим контролем ключевых параметров: температуры, скорости перемешивания, pH питательной среды.

Культивирование в колбах на шейкере. Приготовили питательную среду на основе жидкого бульона и 10% дрожжевого экстракта, добавили к ней 20% инактивированной сыворотки лошади и разлили по 50 см³ в колбы объемом 250 см³. Посевной материал бактерии восстановили до исходного объема и приготовили десятикратные разведения 10⁻¹ и 10⁻². Затем 5,0 см³ посевного материала в разведении 10⁻² вносили в готовую питательную среду. Колбы с инфицированным материалом и контрольную инкубировали при (37 ± 0,5) °C и статическом перемешивании 100 движ/мин.

Культивирование в реакторе. Рабочим посевным материалом в объеме 300 см³ инфицировали готовую питательную среду объемом 3,0 дм³ и вносили в реактор по замкнутой системе. Устанавливали автоматический режим культивирования: температура – (37 ± 0,5) °C, перемешивание – 90 об/мин, аэрация путем барботирования с последующим перемешиванием начиная с 2-х сут культивирования.

После окончания выращивания оценивали концентрацию жизнеспособных клеток, визуализацию микро-организма и микробиологическую чистоту культуры.

Микробиологическую чистоту культуры контролировали путем посева на питательные среды по ГОСТ 28085-2013².

Концентрацию жизнеспособных клеток оценивали методом предельных разведений. Из объединенной пробы готовили десятикратные разведения на забуференном физиологическом растворе (pH 7,2–7,4) с 10⁻¹ по 10⁻⁹, затем по 1,0 см³ каждого разведения начиная с 10⁻⁴ по 10⁻⁹ засевали в 3 пробирки с готовой питательной средой. Пробирки инкубировали при (37 ± 0,5) °C в течение 14 сут. Затем визуально регистрировали наличие или отсутствие роста микроорганизма по проявлению опалесценции. Наиболее вероятное число клеток в единице объема рассчитывали по таблице Мак-Креди.

Визуализацию штамма проводили путем посева по 0,1 см³ из наивысших разведений, где наблюдали в бульоне ярко выраженную опалесценцию, на чашки с твердой синтетической питательной средой. После полного впитывания содержимого чашки с посевами помещали в CO₂-инкубатор. Инокулянты инкубировали в течение 5–7 сут при температуре (37 ± 0,5) °C в атмосфере с повышенным до 5% содержанием CO₂ и с 95%-й относительной влажностью. Затем исследовали выросшие на плотных средах колонии путем микроскопирования с помощью светового микроскопа Opton ID 03 (ZEISS, Германия).

¹ Государственная коллекция микроорганизмов, вызывающих опасные, особо опасные, в том числе зооантропонозные и не встречающиеся на территории страны болезни животных. Режим доступа: <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/441429>.

² ГОСТ 28085-2013 Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Метод бактериологического контроля стерильности. Режим доступа: <https://meganorm.ru/Data2/1/4293775/4293775115.pdf>.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии исследований определяли динамику накопления биомассы микоплазмы при культивировании во взвеси в колбах на шейкере. Культивирование осуществляли до момента выхода культуры на фазу стационарного роста. Была определена исходная концентрация микоплазмы в питательной среде при посеве – $11,5 \times 10^6$ наиболее вероятных единиц микробных клеток в единице объема. Далее на протяжении 7 сут культивирования отбирались пробы для оценки накопления биомассы. Результаты представлены на рисунке 1.

Как видно из графика, лаг-фаза длилась первые 2 сут выращивания, в течение которых наблюдали незначительное снижение концентрации микробных клеток, титры составляли $2,5 \times 10^5$ – $9,5 \times 10^5$. Третьи – четвертые сутки рассматривались как фаза логарифмического роста, когда шло увеличение бактериальной популяции на несколько порядков. В этот период времени произошло накопление микоплазмы до $2,5 \times 10^8$ – $4,5 \times 10^9$ клеток в единице объема. На 5-е сут концентрация находилась в равновесном положении с лог-фазой и составила $4,5 \times 10^9$, что свидетельствовало о переходе культуры в фазу стационарного роста. Начиная с 6-х сут культивирования наблюдали заметное снижение бактериальной массы, что указывало на наступление фазы гибели.

Таким образом, результаты данного опыта наглядно продемонстрировали, как микоплазма проходит все 4 фазы роста при безопорном методе культивирования. Максимальное накопление клеток в единице объема наблюдали на 4-е сут культивирования в фазе экспоненциального роста, продолжительность которой для исследуемого штамма составила 48 ч.

Оптимальные значения водородного показателя среды для размножения *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* штамма «МА-ВНИИВВиМ» лежат в диапазоне от 7,8 до 8,0. При культивировании в колбах отмечено изменение уровня pH в зависимости от наступающей фазы роста. В первые 2 сут кислотность среды соответствовала исходной величине pH приготовленной среды культивирования, равной 8,0. На третьи – четвертые сутки уровень pH составил 7,8. При наступлении новой фазы культивирования происходило постепенное снижение значения водородного показателя, свидетельствующее об активном приросте биомассы. На 5–6-е сут уровень pH варьировал от 7,7 до 7,5, это связано с накоплением продуктов жизнедеятельности бактерии, снижением необходимых питательных веществ для роста микроорганизма, что, в свою очередь, оказало влияние на рост культуры.

Таким образом, в процессе культивирования микоплазмы, в зависимости от фазы роста бактерии, происходит изменение концентрации водородных ионов в среде культивирования.

Выбранные параметры выращивания в колбах (степень заполнения, доза инфицирования, длительность культивирования, скорость перемешивания) были применены для размножения в реакторе 5-литрового объема. При культивировании особое внимание уделяли барботированию, так как в питательной среде содержался высокий процент сыворотки, что могло вызвать образование пены. Результаты изучения динамики накопления микробных клеток представлены в таблице.



Рис. 1. Динамика роста популяции микоплазмы при культивировании во взвеси

Fig. 1. Dynamics of mycoplasma population growth at suspension cultivation

Таблица

Накопление микоплазмы вакцинного штамма «МА-ВНИИВВиМ» в ферментере

Table

Accumulation of mycoplasma vaccine strain "MA-VNIIVViM" in the fermenter

	Время культивирования (сут)			
	0	2	3	4
Активность (НВЧ)	$9,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^4$	$9,5 \times 10^8$	$2,8 \times 10^9$

НВЧ – наиболее вероятное число в единице объема.

MPN – most probable number.

Как видим, в ферментере прослеживаются все стадии роста бактерии, как и при культивировании на шейкере в колбах. На 4-е сут культивирования отмечали высокое накопление микоплазмы – $2,8 \times 10^9$ клеток в единице объема. Продолжительность фазы экспоненциального роста в реакторе также составила 48 ч, и накопление биомассы было равноценным.

Таким образом, метод глубинного культивирования можно использовать на этапе наработки бактерии в технологии изготовления вакцины против контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота.

Для визуализации микоплазмы, полученной при культивировании глубинным способом, осуществляли посев испытуемого образца на твердую питательную среду. На 5-е сут культивирования при микроскопии хорошо видны выросшие колонии микоплазмы. В поле зрения наблюдали как единичные колонии, так и их скопление (рис. 2).

Колонии имели правильную округлую форму, напоминающую блюдце, с желтоватого цвета сердцевинкой и прозрачно-сероватыми краями (рис. 3). Были колонии, которые находились в стадии деления путем почкования (рис. 4).

Таким образом, при глубинном культивировании была получена биомасса с высокой степенью накопления, при высеве на плотную питательную среду колонии микоплазмы имели характерный внешний вид личинки-глазуньи.

Бактерии, в частности микоплазмы, подобно перевиваемым культурам клеток, выращиваются суспензионным методом и проходят все фазы цикла роста [19]. Микоплазмы культивируются довольно продолжительное

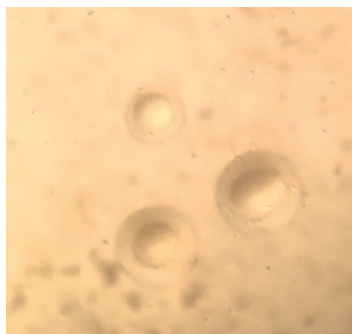


Рис. 2. Колонии микоплазмы

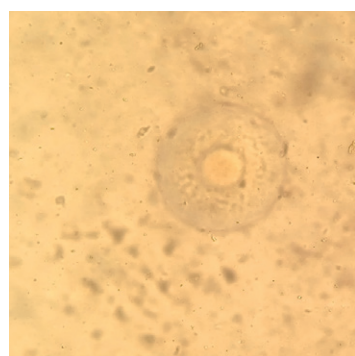
Fig. 2. *Mycoplasma* colonies

Рис. 3. Сердцевина колонии

Fig. 3. Colony center

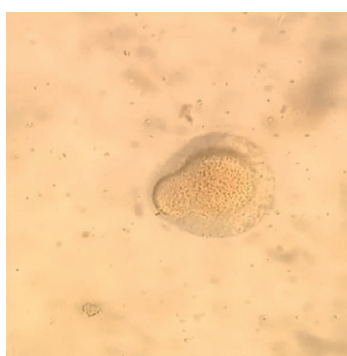


Рис. 4. Колония в процессе деления

Fig. 4. Colony in the process of replication

время, в отличие от других бактерий, у которых весь этот процесс может занимать 18 ч, например у сальмонелл [20].

При культивировании микоплазмы во взвешенном состоянии довольно ярко показан процесс роста как при использовании шейкера, так и в ферментере. Все 4 стадии имели определенный промежуток времени. Определено, что в лаг-фазе наблюдали потерю бактериальной массы на один порядок, и она длилась 2 сут. Экспоненциальная, или лог-фаза, продолжалась также 2 сут, в отличие от других бактерий, у которых она длится от нескольких минут до суток. Например, при культивировании сальмонелл она равна 20–30 мин, кишечной палочки – 15–17 мин, стафилококков – 25–35 мин, туберкулезной палочки – 19–20 ч [19]. Стационарная фаза, при которой наблюдали равновесное состояние между ростом и гибелью бактерии, длилась одни сутки, и далее наступала фаза гибели.

Использование в работе биореактора при выращивании микоплазмы позволило автоматизировать основные параметры культивирования: температуру, перемешивание жидкой и воздушной фазы. За счет непрерывного процесса перемешивания все компоненты, входящие в состав среды, а также микробные клетки равномерно распределялись по всему рабочему объему ферментера, что позволило получить однородную бактериальную массу [21].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как показали результаты исследований, возможно использовать метод глубинного культивирования для получения биомассы микоплазмы. При таких параметрах культивирования, как засев микоплазмы в дозе

10^5 микробных клеток в единице объема, объем заполнения на 2/3, температура инкубирования ($37 \pm 0,5$) °C, перемешивание жидкости при 90 об/мин, а также при использовании синтетической питательной среды в стадии логарифмического роста бактерия накапливается в титре 10^9 клеток в единице объема.

Установлено, что при безопорном культивировании рост вакцинного штамма «МА-ВНИИВВиМ» *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* при прохождении 4 фаз цикла подчиняется классическим закономерностям. Продолжительность экспоненциальной фазы роста составила 48 ч. При данном способе выращивания штамм сохранял характерные для микоплазм признаки роста: ярко выраженную опалесценцию в жидкой синтетической питательной среде и развитие выраженной картины «яичницы-глазуньи» при высеве на твердую синтетическую питательную среду.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Медведев А. П., Вербицкий А. А. Основы получения противобактериальных вакцин и сывороток: монография. Витебск: ВГАВМ; 2010. 196 с.
2. Фирсова М. С., Евграфова В. А., Потехин А. В. Подбор питательной среды и оптимизация режима глубинного культивирования *Avibacterium paragallinarum*. *Ветеринария сегодня*. 2019; (2): 12–16. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-2-29-12-16.
3. Шенелев И. А., Волох О. А., Еремин С. А., Авдеева Н. Г., Кузнецова Е. М. Способ получения биомассы туляремиального микроба. Патент № 2451743 Российская Федерация, МПК C12N 1/20 (2006.01), C12R 1/00 (2006.01). «РосНИПЧИ «Микроб». № 2010131275/10. Заявл. 26.07.2010. Оpubл. 27.05.2012. Бюл. № 15. Режим доступа: <https://patentimages.storage.googleapis.com/27/d7/d2/cc31eed5004cbb/RU2451743C2.pdf>.
4. Лиморенко А. П. Разработка технологии глубинного способа культивирования микроорганизмов *B. subtilis* и *B. licheniformis* для производства пробиотиков: дис. ... канд. биол. наук. М.; 2002. 149 с.
5. Панкратова Н. А., Табакова Д. А., Гусева Е. В. Исследование процесса культивирования *E. coli* в реакторе периодического действия. *Успехи в химии и химической технологии*. 2017; 31 (9): 32–33. EID: ZTMGJD.
6. Bonnet M., Lagier J. C., Raoult D., Khelaifa S. Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes New Infect.* 2019; 34:100622. DOI: 10.1016/j.nmni.2019.100622.
7. March J. B., Clark J., Brodrie M. Characterization of strains of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* small colony type isolated from recent outbreaks of contagious bovine pleuropneumonia in Botswana and Tanzania: evidence for a new biotype. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38 (4): 1419–1425. DOI: 10.1128/JCM.38.4.1419-1425.2000.
8. Козлов Д. А., Волков М. С., Черняева Т. Ю., Сорокина М. И., Ирза В. Н. Влияние сыворотки крови крупного рогатого скота на ростовые свойства питательной среды для культивирования *Mycoplasma gallisepticum* и *Mycoplasma synoviae*. *Ветеринария сегодня*. 2022; 11 (2): 156–162. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-156-162.
9. Орлова С. Т., Сидорчук А. А., Гребенникова Т. В. Культивирование микоплазм – ретроспектива и перспективы. *Российский ветеринарный журнал*. 2018; (5): 6–13. DOI: 10.32416/article_5d1caf6645a4b1.87344381.
10. Суханова С. М., Бердникова З. Е., Тихонова А. С. Совершенствование методики оценки качества питательной среды для выявления микоплазм. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2019; 19 (3): 161–168. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-3-161-168.
11. Бессарабов Б. Ф., Вашутин А. А., Воронин Е. С. и др. Инфекционные болезни животных. Под ред. А. А. Сидорчука. М.: КолосС; 2007. 671 с.
12. Amanfu W. Contagious bovine pleuropneumonia (lung sickness) in Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2009; 76 (1): 13–17. DOI: 10.4102/ojvr.v76i1.55.
13. Di Teodoro G., Marruchella G., Di Provvido A., D'Angelo A. R., Orsini G., Di Giuseppe P., et al. Contagious bovine pleuropneumonia: a comprehensive overview. *Vet. Pathol.* 2020; 57 (4): 476–489. DOI: 10.1177/0300985820921818.
14. Karimuribo E. D., Kambarage D. M., Lema B., Kazwala R. R., Mtambo M. M. A., Kusiluka L. J. M. Factors influencing the effective control of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) in Tanzania. *Tanzania Veterinary Journal*. 1997; 17 (3): 195–206.
15. Tambi N. E., Maina W. O., Ndi C. L. An estimation of the economic impact of contagious bovine pleuropneumonia in Africa. *Rev. Sci. Tech.* 2006; 25 (3): 999–1011. DOI: 10.20506/rst.25.3.1710.

16. Alhaji N. B., Ankeli P. I., Ikpa L. T., Babalobi O. O. Contagious bovine pleuropneumonia: challenges and prospects regarding diagnosis and control strategies in Africa. *Veterinary Medicine: Research and Reports*. 2020; 11: 71–85. DOI: 10.2147/VMRR.S180025.

17. Пискунов А. В., Кононов А. В., Мищенко А. В. Проблема контагиозной плевропневмонии крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2016; (3): 27–36.

18. WOA. Infection with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC (contagious bovine pleuropneumonia). Chapter 11.5. Режим доступа: https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/?id=169&L=1&htmlfile=chapitre_mycoplasma_mycoides.htm.

19. Сергеев В. А. Репродукция и выращивание вирусов животных. М.: Колос; 1976. 303 с.

20. Медведев А. П., Вербицкий А. А., Асташонков Ю. О., Огурцова К. А. Динамика накопления биомассы сальмонелл при их глубинном культивировании. *Ветеринарный журнал Беларуси*. 2018; 1 (8): 9–11. Режим доступа: <https://repo.vsvam.by/bitstream/123456789/5113/1/j-2018-1-9-11.pdf>.

21. Самуйленко А. Я., Рубан Е. А. Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов: в 2 т. М.: ВНИТИБП; 2000. 782 с.

REFERENCES

1. Medvedev A. P., Verbitsky A. A. Basics of antibacterial vaccine and serum production: monograph. Vitebsk: VSAVM; 2010. 196 p. (in Russ.)

2. Firsova M. S., Yevgrafova V. A., Potekhin A. V. Nutrient medium selection and optimization of *Avibacterium paragallinarum* deep culture method. *Veterinary Science Today*. 2019; (2): 12–16. DOI: 10.29326/2304-196X-2019-2-29-12-16.

3. Shepelev I. A., Volokh O. A., Eremin S. A., Avdeeva N. G., Kuznetsova E. M. Method of producing tularemia microbe biomass. Patent No. 2451743 Russian Federation, Int. Cl. C12N 1/20 (2006.01), C12R 1/00 (2006.01). "RosNIPChl "Mikrob". No. 2010131275/10. Date of filing: 26.07.2010. Date of publication: 27.05.2012. Bull. No. 15. Available at: <https://patentimages.storage.googleapis.com/27/d7/d2/cc31eed5004cbb/RU2451743C2.pdf>. (in Russ.)

4. Limorenko A. P. Development of *B. subtilis* and *B. licheniformis* submerged cultivation technique for production of probiotics: Author's Thesis for degree of Candidate of Science (Biology). Moscow; 2002. 149 p. (in Russ.)

5. Pankratova N. A., Tabakova D. A., Guseva E. V. Investigation of *E. coli* cultivation in batch bioreactor. *Advances in Chemistry and Chemical Technology*. 2017; 31 (9): 32–33. EDN: ZTMGJD. (in Russ.)

6. Bonnet M., Lagier J. C., Raoult D., Khelaifia S. Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes New Infect.* 2019; 34:100622. DOI: 10.1016/j.nmni.2019.100622.

7. March J. B., Clark J., Brodli M. Characterization of strains of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* small colony type isolated from recent outbreaks of contagious bovine pleuropneumonia in Botswana and Tanzania: evidence for a new biotype. *J. Clin. Microbiol.* 2000; 38 (4): 1419–1425. DOI: 10.1128/JCM.38.4.1419-1425.2000.

8. Kozlov D. A., Volkov M. S., Chernyayeva T. Yu., Sorokina M. I., Irza V. N. Influence of bovine blood serum on growth properties of nutrient media for *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* cultivation. *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (2): 156–162. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-156-162.

9. Orlova S. T., Sidorchuk A. A., Grebennikova T. V. Cultivation of mycoplasmas – a retrospective and prospects. *Russian veterinary journal*. 2018; (5): 6–13. DOI: 10.32416/article_5d1caf6645a4b1.87344381. (in Russ.)

10. Sukhanova S. M., Berdnikova Z. E., Tikhonova A. S. Ways to improve quality control of culture medium used for *Mycoplasma* detection. *Biopreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2019; 19 (3): 161–168. DOI: 10.30895/2221-996X-2019-19-3-161-168. (in Russ.)

11. Bessarabov B. F., Vashutin A. A., Voronin Ye. S., et al. Infectious animal diseases. Ed. by A. A. Sidorchuk. Moscow: Kolos; 2007. 671 p. (in Russ.)

12. Amanfu W. Contagious bovine pleuropneumonia (lung sickness) in Africa. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 2009; 76 (1): 13–17. DOI: 10.4102/ojvr.v76i1.55.

13. Di Teodoro G., Marruchella G., Di Provvido A., D'Angelo A. R., Orsini G., Di Giuseppe P., et al. Contagious bovine pleuropneumonia: a comprehensive overview. *Vet. Pathol.* 2020; 57 (4): 476–489. DOI: 10.1177/0300985820921818.

14. Karimuribo E. D., Kambarage D. M., Lema B., Kazwala R. R., Mtambo M. M. A., Kusiluka L. J. M. Factors influencing the effective control of contagious bovine pleuropneumonia (CBPP) in Tanzania. *Tanzania Veterinary Journal*. 1997; 17 (3): 195–206.

15. Tambi N. E., Maina W. O., Ndi C. An estimation of the economic impact of contagious bovine pleuropneumonia in Africa. *Rev. Sci. Tech.* 2006; 25 (3): 999–1011. DOI: 10.20506/rst.25.3.1710.

16. Alhaji N. B., Ankeli P. I., Ikpa L. T., Babalobi O. O. Contagious bovine pleuropneumonia: challenges and prospects regarding diagnosis and control strategies in Africa. *Vet. Med (Auckl.)*. 2020; 11: 71–85. DOI: 10.2147/VMRR.S180025.

17. Piskunov A. V., Kononov A. V., Mischenko A. V. Problem of contagious bovine pleuropneumonia. *Veterinary Science Today*. 2016; (3): 27–36. (in Russ.)

18. WOA. Infection with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* SC (contagious bovine pleuropneumonia). Chapter 11.5. Available at: https://www.woah.org/en/what-we-do/standards/codes-and-manuals/terrestrial-code-online-access/?id=169&L=1&htmlfile=chapitre_mycoplasma_mycoides.htm.

19. Sergeev V. A. Reproduction and cultivation of animal viruses. Moscow: Kolos; 1976. 303 p. (in Russ.)

20. Medvedev A. P., Viarbitski A. A., Astaschonok Y. O., Ogurchova K. A. The dynamics of *Salmonella* accumulation during in-depth cultivation. *Veterinarnyi zhurnal Belarusi*. 2018; 1 (8): 9–11. Available at: <https://repo.vsvam.by/bitstream/123456789/5113/1/j-2018-1-9-11.pdf>. (in Russ.)

21. Samuylenko A. Ya., Ruban E. A. Basics of veterinary biologicals production technology: in 2 vol. Moscow: VNITIBP; 2000. 782 p. (in Russ.)

Поступила в редакцию / Received 02.12.2022

Поступила после рецензирования / Revised 25.01.2023

Принята к публикации / Accepted 09.03.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРЕ / INFORMATION ABOUT THE AUTHOR

Лаптева Оксана Георгиевна, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник лаборатории «Лекарственные средства для животных» ФГБНУ ФИЦВиМ, пос. Вольгинский, Владимирская обл., Россия;
<https://orcid.org/0000-0002-4435-8368>,
e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru.

Oksana G. Lapteva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Veterinary Medicinal Products, FRCVM, Volginsky, Vladimir Oblast, Russia;
<https://orcid.org/0000-0002-4435-8368>,
e-mail: oksana-lapteva@rambler.ru.

DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-164-170
УДК 619:616:98:578.835.2:615.371



Инаktivация вируса ящура для изготовления вакцин

Д. В. Михалишин, В. В. Михалишин, Ы. М. Гочмурадов, Ю. С. Елькина

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

РЕЗЮМЕ

Инаktivация – это потеря вирусом способности к репродукции и инфицированию восприимчивых животных при сохранении антигенных свойств. В работе показана эффективность применения аминоэтилэтанимина в качестве инаktivанта вируса ящура. Определены скорость снижения титра инфекционности при выбранных параметрах процесса инаktivации, влияние аминоэтилэтанимина на стабильность вируса в процессе инаktivации и на иммуногенность вакцин после хранения при температуре 2–8 °С. Представлен метод вычисления пятидесятипроцентной инаktivирующей концентрации аминоэтилэтанимина (K_{50}), позволяющей качественно характеризовать вирусосодержащую суспензию, сравнивать активность инаktivантов и их способность обеспечивать авирулентность препарата в заданный промежуток времени. В результате проведенных исследований было установлено, что значение K_{50} для неочищенной и очищенной вирусосодержащих суспензий было одинаковым – 0,0045%, а уровень безопасности после 12 ч инаktivации составил одну ТЦД₅₀ в 10^9 – 10^{11} л вирусосодержащей суспензии. Также было выявлено, что увеличение времени инаktivации в два раза повысило вирулицидную активность аминоэтилэтанимина: для типа О – в 1,8 раза, для типа А – в 2,4 раза. В то же время очистка от клеточного дебриса на процесс инаktivации не оказывала существенного влияния. Аминоэтилэтанимин не разрушает 146S частицы вируса, что и было подтверждено при исследовании иммуногенной активности вакцин в процессе хранения. Таким образом, аминоэтилэтанимин, выпускаемый в виде 15%-го водного раствора российской фирмой ООО «Биохимресурс» (г. Владимир), соответствует высоким стандартам качества. При исследовании иммуногенности эмульсионной бивалентной противоящурной вакцины для крупного рогатого скота в остром опыте установили, что активность препарата составила 10,08 защитных доз в прививном объеме 2 см³.

Ключевые слова: вирус ящура, вирулицидная активность, инаktivант, вакцина

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

Для цитирования: Михалишин Д. В., Михалишин В. В., Гочмурадов Ы. М., Елькина Ю. С. Инаktivация вируса ящура для изготовления вакцин. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (2): 164–170. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-164-170.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Михалишин Дмитрий Валерьевич, доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: mihalishindv@arriah.ru.

Inactivation of foot and mouth disease virus for vaccine production

D. V. Mikhilishin, V. V. Mikhilishin, Y. M. Gochmuradov, Yu. S. El'kina

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

SUMMARY

Inactivation is the loss by a virus of ability to reproduce and infect susceptible animals while retaining its antigenic properties. In this paper, the effectiveness of aminoethylethanolamine when used as an FMDV inactivant is shown. The inactivation rates under selected parameters, effect of aminoethylethanolamine on virus stability during inactivation and on vaccine immunogenicity after storage at 2–8 °C were determined. The method for calculation of 50% aminoethylethanolamine inactivating concentration (IC_{50}) which enables to determine quality parameters of the virus-containing suspension, to compare the inactivating agent activities and their ability to ensure the vaccine innocuity within the given period of time is presented. It was established that IC_{50} for purified and non-purified virus-containing suspensions was identical (0.0045%), and its safety after 12 h of inactivation was one TCID₅₀ per 10^9 – 10^{11} L of the virus containing suspension. It was also found that double increase in inactivation time increased the virucidal activity of aminoethylethanolamine by a factor of 1.8 for serotype O and 2.4 for serotype A. At the same time, the removal of cell debris had no significant effect on the inactivation process. Aminoethylethanolamine does not destroy 146S virus particles and it was confirmed by immunogenicity testing of the vaccines during storage. This means that 15% aqueous solution of aminoethylethanolamine, manufactured by Russian Company ООО "BIOKHMRESURS" (Vladimir) complies with high quality standards. Immunogenicity test of bivalent FMD vaccine for cattle by challenging demonstrated that its potency was 10.08 protective doses per 2 cm³ of the vaccination dose.

Keywords: foot and mouth disease virus, virucidal activity, inactivating agent, vaccine

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

For citation: Mikhilishin D. V., Mikhilishin V. V., Gochmuradov Y. M., El'kina Yu. S. Inactivation of foot and mouth disease virus for vaccine production. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 164–170. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-164-170.

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

© Михалишин Д. В., Михалишин В. В., Гочмурадов Ы. М., Елькина Ю. С., 2023

For correspondence: Dmitry V. Mikhailishin, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", 600901, Russia, Vladimir, Yur'evets, e-mail: mihalishindv@arriah.ru.

ВВЕДЕНИЕ

Изготовление цельновирионных вакцин против ящура представляет собой сложный и многоэтапный процесс. Одним из обязательных этапов в технологии производства вакцин является инаktivация вируса ящура. Инаktivация – это потеря вирусом способности к репродукции и инфицированию восприимчивых животных при сохранении антигенных свойств [1].

Основное требование к инаktivанту состоит в том, чтобы он, изменяя нуклеиновую кислоту вируса, существенно не нарушал свойства белка – носителя иммуногенности. При изготовлении противоящурных вакцин формальдегид был первым химическим агентом, использованным для инаktivации вируса [2], с его помощью получили авирулентный, пригодный для иммунизации крупного рогатого скота препарат.

Формальдегид как инаktivант имеет ряд недостатков: узкие границы концентраций, инаktivующих инфекционность вируса и снижающих иммуногенность вакцины; многокомпонентный характер кривой снижения инфекционности [3–5], который не позволяет определить конечную точку инаktivации для расчета уровня безопасности вакцины [6]; продукты реакции формальдегида с балластными белками обладают аллергической активностью [7]; вакцины плохо сохраняются при повышенной температуре. В качестве инаktivантов были испытаны гидроксиламин, метилглиоксаль, окись этилена, однако они не нашли широкого применения при изготовлении противоящурных вакцин.

Исследования F. Brown et al. [8, 9] открыли новый класс химических веществ (азиридины), которые превосходили формальдегид в скорости инаktivации и сохранении иммуногенных свойств вируса ящура.

Bahnemann H. G. [10, 11] предложил использовать для инаktivации вируса ящура реакционную смесь, полученную в результате синтеза этиленимина из 2-бромэтиламина гидробромида. Этот препарат был назван бинарным этиленимином, который широко используется в технологии изготовления противоящурных вакцин.

Азиридины инаktivируют инфекционность вируса по реакции первого порядка без существенного снижения иммуногенности. Линейное снижение инфекционности дает возможность рассчитать уровень специфической безопасности вакцины [12–16].

Скорость взаимодействия инаktivанта с активными группами белковой оболочки и нуклеиновой кислотой вирусов прямо пропорциональна концентрации реагирующих групп. Кроме концентрации инаktivанта на скорость инаktivации оказывают влияние температура, время инкубации, pH среды и компоненты вирусосодержащей суспензии. При изготовлении вакцины особое значение имеет не скорость инаktivации основной массы вирусной популяции, а способность химического вещества обеспечивать полную инаktivацию вируса [17].

При производстве противоящурной вакцины важным требованием к обеспечению безопасности продукта является полнота инаktivации вируса ящура. Безопасность вакцины может контролироваться более эффективно с помощью изучения кинетики инаktivации, которая позволяет определить теоретическое время инаktivации, а также порядок дезактивации вируса. Логарифмический график остаточной инфекционности в зависимости от времени реакции инаktivации должен быть линейным. Полученная таким образом прямая линия позволяет провести экстраполяцию до конечной точки периода инаktivации. Проверка процесса инаktivации является неотъемлемой частью гарантии качества вакцины [18, 19]. Аминоэтилэтилен-имин (АЭЭИ) в исследованиях Н. А. Улупова и соавт. был определен наиболее подходящим инаktivантом, который используется в процессе изготовления противоящурных вакцин в настоящее время [20].

Преимущества и перспективность использования АЭЭИ в производстве вакцин против ящура отмечали в своих работах многие авторы [21–24]. Всемирная организация здравоохранения животных рекомендует для инаktivации инфекционности вируса ящура в производстве вакцин применять бинарный этиленимин [25]. Механизм инаktivации вируса этиленимином и его олигомерами заключается в алкилировании нуклеиновой кислоты или белка с разрывом этиленового цикла [6, 20].

В данной статье приведены некоторые результаты исследований по инаktivации инфекционной активности вируса ящура АЭЭИ. Показан метод оценки вирулицидности инаktivанта и его влияние на иммуногенность вакцин и стабильность антигена в процессе хранения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вирус. В работе использовали производственные штаммы вируса ящура типов А, О, С, Азия-1, CAT-1, CAT-2, CAT-3, адаптированные к новорожденным крольчатам и суспензионной культуре клеток ВНК-21/2-17.

Животные: белые мыши массой 18–20 г, мышата-сосуны 3–5-суточного возраста, крупный рогатый скот (КРС) массой 250–300 кг.

Культура клеток: первично трипсинизированная культура свиной почки (СП), суспензионная культура клеток ВНК-21/2-17.

Инаktivант: 15%-й водный раствор 1-(2-аминоэтил)-азиридина (ООО «Биохимресурс», Россия) и безводный АЭЭИ при хранении над сухой щелочью (NaOH).

Определение величины K_{50} инаktivантов. Определение вирулицидной активности АЭЭИ основано на установлении концентрации инаktivанта, обеспечивающей снижение инфекционности вирусосодержащей суспензии до 10^0 ЛД₅₀ или ТЦД₅₀ при заданных параметрах времени, температуры и pH. По аналогии

с методом определения иммуногенности вакцин путем вычисления 50%-й защитной дозы можно рассчитать концентрацию инактиванта, защищающую от поражения вирусом 50% зараженных животных или флаконов с культурой ткани (K_{50}).

Величину K_{50} определяли по формуле Кербера – Ашмарина:

$$\lg K_{50} = \lg D_{\max} - \lg d (\Sigma L_i - 0,5),$$

где $D_{\max}$ – максимальная концентрация инактиванта, при которой не заболевают ящуром все зараженные тест-объекты;

d – кратность испытываемых концентраций инактиванта;

ΣL_i – сумма отношений количества незаболевших мышат-сосунков или не имеющих ЦПД (цитопатическое действие) флаконов с монослоем клеток свиной почки к количеству зараженных мышат-сосунков или флаконов.

Результатом определения K_{50} является процентная концентрация инактиванта в суспензии вируса ящура, снижающая его инфекционность до одной ЛД₅₀ или ТЦД₅₀ в испытываемом объеме суспензии.

Пример:

В точно отмеренные объемы испытываемого вирус-содержащего препарата вносят инактивант, получая двукратно возрастающие конечные концентрации. В образцах устанавливают одинаковые значения pH и температуры. После заданного периода инкубации определяют остаточную инфекционность препаратов, используя мышат-сосунков или культуру клеток. На каждую концентрацию инактиванта берут по 10 животных или флаконов. Наблюдение за мышатами проводят в течение 7 дней, а за культурой клеток от 3 до 4 дней, регистрируя количество пораженных и непораженных объектов.

Концентрация инактиванта	Количество животных в опыте	Количество незаболевших	Отношение количества незаболевших к числу зараженных
0,005	10	0	0/10
0,010	10	3	3/10
0,020	10	7	7/10
0,040	10	10	10/10
0,080	10	10	10/10

Расчет K_{50} по данным таблицы: $\lg K_{50} = \lg 0,08 - \lg 2 (0/10 + 3/10 + 7/10 + 10/10 + 10/10 - 0,5) = 2,9 - 0,3 \times 2,5 = 2,9 - 0,75 = 2,15$.

Антилогарифм 2,15 равен 0,014, следовательно, $K_{50} = 0,014\%$.

Вычисленная концентрация инактиванта в вирусном препарате, равная 0,014%, обеспечивает снижение инфекционности до уровня одной инфекционной единицы в течение заданного времени, температуры и pH инактивации. Достоинство метода в быстром определении режима инактивации вируса для производства вакцины. Рассчитанная концентрация инактиванта, защищающая 50% тест-объектов, отражает качественную характеристику любого компонента вирусосодержащей суспензии, роль температуры, pH при режиме инактивации АЭЭИ и его вирулицидную активность при замене партии (серии) и в процессе хранения [17].

Определение динамики инактивации инфекционности вируса ящура. Динамику инактивации инфекционности определяли после вычисления величины K_{50} . В вирусную суспензию вносили инактивант до концентрации, в несколько раз превышающей K_{50} , инкубировали смесь при заданной температуре, отбирали пробы суспензии через каждый час и хранили в замороженном виде до испытания на инфекционность. Построенный график снижения титра инфекционности характеризовал скорость инактивации и уровень специфической безопасности вакцины для определенной длительности инактивации.

Экспериментальные вакцины из лапинизированного вируса ящура готовили на ацетатном, аммиачном и фосфатном буферных растворах. Вирусные суспензии, содержащие 10% кроличьей ткани, очищали хлороформом, добавляли раствор АЭЭИ до концентрации 0,03%, устанавливали pH в пределах 7,2–7,8 и инкубировали при температуре 26–27 °C в течение 24 ч. Из авирулентных суспензий готовили вакцины, содержащие 59,5% суспензии, 30% гидроокиси алюминия с 3%-й концентрацией Al_2O_3 , 10% глицерина и 0,5% раствора сапонина 10%-й концентрации.

Из инактивированной суспензии культурального вируса ящура типов А и О на адьюванте Montanide™ ISA 206 в соотношении 1:1 приготавливали бивалентную эмульсионную вакцину с содержанием по 4 мкг 146+75S компонента каждого типа в прививной дозе.

Контроль иммуногенности вакцин проводили на взрослых белых мышах, которых вакцинировали подкожно по 0,4 см³ цельной вакциной и разведенной в 2, 4, 8, 16 раз фосфатным буфером. Через 21 день мышей заражали адаптированным к ним гомологичным вирусом в дозе 10⁴ ЛД₅₀/см³. После 8-дневного наблюдения определяли 50%-ю иммунизирующую дозу вакцины (ИмД₅₀) по формуле Кербера – Ашмарина.

Бивалентная эмульсионная вакцина со сложным типом эмульсии «вода – масло – вода» была испытана количественным методом на КРС. Вакцину вводили трем группам животных по пять голов в каждой внутримышечно снижающейся дозой с 4-кратным шагом (2,0; 0,5 и 0,12 см³). Контрольное заражение осуществляли на 28-е сут после иммунизации путем введения 10⁴ ИД₅₀/0,2 см³ гомологичного вируса в слизистую языка. Через 7 сут проводили осмотр животных и устанавливали протективную дозу (ПД₅₀) в прививном объеме для каждого типа вируса, входящего в состав вакцины.

Все эксперименты на животных проводились в строгом соответствии с межгосударственными стандартами по содержанию и уходу за лабораторными животными ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014, принятыми Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации, а также согласно требованиям Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22.09.2010 по охране животных, используемых в научных целях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследований по определению концентраций АЭЭИ в вирусной суспензии, обеспечивающих снижение вирулентности проб до одной ЛД₅₀, при контроле на мышатах-сосунках 3–5-суточного возраста приведены в таблице 1.

Как видим, 0,0025%-я концентрация АЭЭИ в суспензиях на ацетатном и аммиачном буферных растворах

и 0,0031%-я концентрация АЭЭИ в суспензии на фосфатном буферном растворе снижали инфекционность до одной ЛД₅₀ в течение 24 ч инкубации при 26 °С.

Принимая во внимание данные литературы о том, что азиридины инактивируют инфекционность вируса ящура по реакции первого порядка и скорость инактивации пропорциональна концентрации инактиванта, были определены графики снижения инфекционности вируса типа О в фосфатном буфере при 26–27 °С для концентраций АЭЭИ 0,01 и 0,02%. Эти концентрации в 3,22 и 6,45 раза превосходили величину К₅₀, что должно было ускорить инактивацию в соответствующее количество раз. Однако средняя скорость инактивации через 3 и 6 ч инкубации была в 4 и 8 раз выше, чем при использовании концентрации 0,0031 ± 0,00031%.

Средние значения, полученные в результате проведения трех опытов по изучению кинетики инактивации инфекционности вируса ящура типов А, О, С, Азия-1, САТ-1, САТ-2, САТ-3 с использованием фосфатно-буферного раствора, АЭЭИ в концентрации 0,03% и при температуре 26–27 °С и pH 7,2–7,8, показали, что, несмотря на различия в титрах инфекционности перед началом инактивации, у всех 7 серотипов инфекционность была утрачена через 2 ч. Для режима инактивации длительностью 8 ч уровень специфической безопасности соответствовал одной ЛД₅₀ в 0,1 л (3 ч) и в 10⁹ л (6 ч). Экстраполяция кривых инактивации на длительность в 8 ч свидетельствовала о том, что уровень специфической безопасности суспензии соответствовал одной ЛД₅₀ в 10^{15,3}–10^{15,8} л для серотипов А, О, С, Азия-1, САТ-1, САТ-2, САТ-3. Средняя скорость инактивации вируса ящура по 7 серотипам составила 10^{3,4} ЛД₅₀ в час.

Поскольку димер этиленмина обладает токсичностью, его применяют в виде водных растворов (например, 15%-й водный раствор АЭЭИ), при этом стабильность действующего вещества в растворе снижается в процессе хранения. Поэтому следующим этапом было исследование вирулицидной активности 15%-го раствора АЭЭИ в процессе хранения при температуре 2–8 °С в течение 0, 2, 4, 6 мес. по отношению к культуральному вирусу ящура типа О. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Как видим, вирулицидная активность инактиванта не снизилась после хранения в течение 6 мес. при температуре 2–8 °С, так как 50%-я инактивирующая концентрация (К₅₀) существенно не изменилась через 2, 4, 6 мес. по сравнению с концентрацией до хранения.

Также установили, что 15- и 1-процентный растворы АЭЭИ в деминерализованной воде сохраняли активность в течение 6 мес. (срок наблюдения) при температуре 2–8 °С. Безводный АЭЭИ при хранении над сухой щелочью (NaOH) сохранял активность в течение 20 лет (срок наблюдения) при температуре хранения минус 10–20 °С (неопубликованные данные).

Влияние АЭЭИ на иммуногенность лапинизированного вируса ящура в составе вакцины, содержащей гидроокись алюминия, глицерин и сапонин, исследовали на серотипе О как наиболее лабильном.

В образцы суспензии лапинизированного вируса после очистки хлороформом добавляли раствор АЭЭИ до концентрации 0,03%. Через 24 ч инактивации вируса при 26–27 °С и pH 7,2–7,8 определяли авирулентность и готовили вакцины. Для оценки иммуногенности препаратов использовали метод количественного определения ИмД₅₀ на белых мышах массой 18–20 г. Животных

Таблица 1

Влияние среды суспендирования лапинизированного вируса ящура типа О на вирулицидную активность АЭЭИ (n = 7)

Table 1

Effect of medium used for lapinized FMDV type O suspension on AEEA virucidal activity (n = 7)

Ацетатный буферный раствор	Аммиачный буферный раствор	Фосфатный буферный раствор
Величина К ₅₀ при инактивации вируса в течение 24 ч при 26–27 °С и pH 7,2–7,8		
0,0025 ± 0,00029 P < 0,005	0,0025 ± 0,00029 P < 0,005	0,0031 ± 0,00031 P < 0,001

Таблица 2

Влияние времени хранения на вирулицидную активность АЭЭИ

Table 2

Effect of storage time on AEEA virucidal activity

Время хранения инактиванта (мес.)	К ₅₀ (%)
0	0,0036 0,0040 0,0047
M ± m	0,0041 ± 0,0003
2	0,0050 0,0047 0,0043
M ± m	0,0047 ± 0,0002
4	0,0029 0,0038 0,0047
M ± m	0,0038 ± 0,0005
6	0,0050 0,0040 0,0052
M ± m	0,0047 ± 0,0005

иммунизировали подкожно разведениями вакцины в 1/15 М фосфатном буферном растворе и заражали через 21 день после вакцинации. Иммуногенную активность вакцин определяли после изготовления, через год и 8 лет хранения при температуре 2–8 °С. Результаты опытов представлены в таблице 3.

Установили, что оптимальная по уровню безопасности концентрация АЭЭИ позволила получить одинаковые по иммуногенности вакцины, которые не снижали активности после 8 лет хранения. Однако это коснулось тех вакцин, в которых вирус был суспендирован в ацетатном буферном растворе. Тенденцию к снижению активности выявили у вакцин из вируса, суспендированного в аммиачном и фосфатном буферных растворах.

В процессе работы по инактивации инфекционности вируса ящура был использован инактивант, полученный двумя способами синтеза: первый – при полимеризации этиленмина получали безводный АЭЭИ, а при циклизации сульфозэфира аминоэтилэтиленмина – водный раствор АЭЭИ, содержащий пиперазин. Второй способ используется по настоящее время при изготовлении противоящурных вакцин из вируса, репродуцированного в суспензионной культуре клеток ВНК-21/2-17.

На следующем этапе изучали кинетику снижения инфекционности культурального вируса ящура

Таблица 3

Зависимость стабильности иммуногенных компонентов вируса ящура типа О от среды суспендирования и времени хранения

Table 3

Dependence of FMDV type O immunogenic component stability on suspension medium and storage time

№ п/п	Среда суспендирования вируса	Концентрация АЭЭИ в суспензии (%)	Иммуногенность вакцин для мышей (ИмД ₅₀ в 1 см ³)		
			после изготовления	через 1 год хранения	через 8 лет хранения
1	Ацетатный буферный раствор	0,03	0,16	0,15	0,18
			0,17	0,19	0,21
			0,16	0,18	0,16
			0,15	0,15	0,17
			$0,16 \pm 0,008$	$0,17 \pm 0,021$	$0,18 \pm 0,022$
2	Аммиачный буферный раствор	0,03	0,19	0,29	0,30
			0,19	0,19	0,25
			0,10	0,23	0,24
			0,11	0,11	0,14
			$0,15 \pm 0,049$	$0,21 \pm 0,076$	$0,23 \pm 0,067$
3	Фосфатный буферный раствор	0,03	0,12	0,16	0,21
			0,13	0,18	0,19
			0,13	0,21	0,20
			0,14	0,20	0,23
			$0,13 \pm 0,008$	$0,19 \pm 0,022$	$0,21 \pm 0,017$

Таблица 4

Влияние времени инактивации на вирулицидную активность АЭЭИ

Table 4

Effect of inactivation time on AEEA virucidal activity

Время инактивации (ч)	K ₅₀ (%)	
	вирус ящура типа О	вирус ящура типа А
12	0,0027	0,0031
	0,0030	0,0030
	0,0025	0,0025
	$0,0027 \pm 0,0001$	$0,0029 \pm 0,0001$
24	0,0015	0,0014
	0,0008	0,0009
	0,0011	0,0012
	$0,0011 \pm 0,0001$	$0,0012 \pm 0,0001$

Таблица 5

Влияние очистки на инактивацию вируса ящура типа О

Table 5

Effect of purification on FMDV type O inactivation

Количество опытов	K ₅₀ (%)	
	очищенная суспензия	неочищенная суспензия
1	0,0050	0,0048
2	0,0036	0,0040
3	0,0043	0,0040
4	0,0051	0,0052
$M \pm m$	$0,0045 \pm 0,0007$	$0,0045 \pm 0,0006$

серотипа О, репродуцированного в суспензионной культуре клеток ВНК-21/2-17, в производственном реакторе емкостью 2000 л при концентрации 0,02% АЭЭИ и температуре 37 °С. Выявили, что скорость инактивации существенно ниже скорости инактивации

лапинизированного вируса, несмотря на то что температура инактивации культурального вируса была выше на 10 °С. Это можно объяснить тем, что скорость инактивации инфекционности вируса ящура снижается с увеличением концентрации солей в суспензии и повышением pH. В наших опытах снижение скорости инактивации обусловлено присутствием в суспензии всей массы клеток ВНК-21 в целом и разрушенном виде и более высокой концентрацией солей и других органических веществ. Однако уровень специфической безопасности суспензии после 12 ч инактивации составлял одну ТЦД₅₀ в 10⁹–10¹¹ л суспензии.

Принимая во внимание тот факт, что повышение температуры вирусосодержащей суспензии способствует увеличению вирулицидной активности АЭЭИ, процесс инактивации начинали сразу после окончания репродукции вируса в суспензионной культуре клеток ВНК-21/2-17 при 37 °С. Влияние времени инактивации при 37 °С на вирулицидную активность инактиванта исследовали через 12 и 24 ч.

Результаты, представленные в таблице 4, свидетельствуют о том, что с увеличением времени инкубации при постоянной температуре вирулицидное действие АЭЭИ возрастало для типа О – в 1,8 раза, для типа А – в 2,4 раза.

Так как в процессе инактивации образуется мелко-дисперсная взвесь, технологически удобнее проводить инактивацию до очистки вирусосодержащей суспензии. Поэтому следовало доказать, что такой режим инактивации достаточен для получения авирулентной суспензии как очищенного, так и неочищенного культурального вируса ящура (табл. 5).

Установили, что величина K₅₀ для неочищенной и очищенной суспензий была одинаковой и составляла 0,0045%. Этот факт подтвердил, что клеточный дебрис, содержащийся в неочищенной суспензии, не оказывал отрицательного воздействия на процесс инактивации.

Определение компонентного состава культурального вируса ящура серотипов А, О, С и Азия-1 иммунохимическим методом до и после инактивации инфекционности показало, что не происходило разрушения 146S компонента вируса.

С использованием разработанного режима инактивации культурального вируса ящура типов О и А приготовили бивалентную эмульсионную вакцину, которую испытали на иммуногенную активность количественным методом на КРС (табл. 6).

Данные таблицы 6 показали, что активность вакцины по обоим типам равнялась 10,08 ПД₅₀ в прививном объеме 2 см³.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На примере вируса ящура, адаптированного к организму крольчат 2–3-суточного возраста и к суспензионной культуре клеток ВНК-21/2-17, показана вирулицидная активность олигомера этиленимина – N-аминоэтилэтиленимина (димера этиленимина, АЭЭИ). Начальным этапом оценки инактиванта было определение концентрации, обеспечивающей получение авирулентной вирусной суспензии при заданных параметрах процесса инактивации (температура, концентрация вируса, длительность, pH), и расчет K₅₀. Величина K₅₀ для неочищенной и очищенной суспензий была одинаковой и составляла 0,0045%. Этот факт

подтвердил, что клеточный дебрис и лапинизированные балластные белки, содержащиеся в неочищенной суспензии, не оказывали отрицательного воздействия на процесс инактивации.

Построенный график снижения титра инфекционности при выбранных параметрах процесса инактивации (0,02%-я концентрация АЭЭИ при температуре 37 °C) позволил определить уровень безопасности после 12 ч инактивации, который составил одну ТЦД₅₀ в 10⁹–10¹¹ л вирусосодержащей суспензии, предназначенной для получения вакцины.

В результате изучения зависимости концентрации АЭЭИ и времени хранения вакцины на иммуногенность вируса ящура было установлено, что после инактивации не происходило разрушения 146S компонента вируса.

Иммуногенная активность бивалентной противоящурной вакцины по типам А и О равнялась 10,08 ПД₅₀ в прививном объеме 2 см³. Вирулицидность, стабильность, высокая скорость снижения инфекционности, минимальное повреждение 146S частиц основного иммуногенного компонента вируса указывает на то, что АЭЭИ в качестве инактиванта вируса ящура имеет ряд преимуществ перед другими азиридидами. Таким образом, аминоэтилэтиленмин, выпускаемый в виде 15%-го водного раствора российской фирмой ООО «Биохимресурс» (г. Владимир), соответствует высоким стандартам качества.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Сергеев В. А., Непоклонов Е. А., Алипер Т. И. Вирусы и вирусные вакцины. М.: Библионика; 2007. 524 с.
- Vallée H., Carré H., Rinjard P. Sur l'immunisation anti-aphteuse par le virus formolé. *Rev. gén. Méd. vét.* 1926; 35: 129–134.
- Barteling S. J., Woortmeyer R. Formaldehyde inactivation of foot-and-mouth disease virus. Conditions for the preparation of safe vaccine. *Arch. Virol.* 1984; 80 (2–3): 103–117. DOI: 10.1007/BF01310652.
- Gard S. Theoretical considerations in the inactivation of viruses by chemical means. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1960; 83: 638–648. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1960.tb40934.x.
- Melvin P. A., Pryce J.-M. G. Production of viral antigens with N-acetyl-ethyleneimine. Patent No. US3318775A United States, Int. C12N7/00. Imperial Chemical Industries Ltd. Date of filing: 29.01.1963. Date of publication: 09.05.1967. Режим доступа: <https://patents.google.com/patent/US3318775A/en>.
- Улулов Н. А., Михалишин В. В., Гусев А. А., Лёзова Т. Н. Аминоэтилэтиленмин – средство инактивации инфекционности вируса ящура. *Современные аспекты ветеринарной патологии животных: материалы конференции, посвященной 40-летию со дня основания ВНИИЗЖ (23–25 ноября 1998 г.)*. Владимир; 1998; 53–62.
- Pay T. W. F., Telling R. C., Kitchener B. L., Southern J. Some observations of FMD virus inactivation with acetyleneimine. In: *European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease. Report of the Meeting of the Research Group of the Standing Technical Committee (22–24 October 1971, Tübingen, Germany)*. Rome: FAO; 1972; 81–86. Режим доступа: <https://www.fao.org/3/ca9381en/ca9381en.pdf>.
- Brown F., Crick J. Application of agar-gel diffusion analysis to a study of the antigenic structure of inactivated vaccines prepared from the virus of foot-and-mouth disease. *J. Immunol.* 1959; 82 (5): 444–447. PMID: 13641679.
- Brown F., Hyslop N. St G., Crick J., Morrow A. W. The use of acetyleneimine in the production of inactivated foot-and-mouth disease vaccines. *J. Hyg. (Lond)*. 1963; 61 (3): 337–344. DOI: 10.1017/s0022172400039620.
- Bahnemann H. G. Inactivation of viral antigens for vaccine preparation with particular reference to the application of binary ethyleneimine. *Vaccine*. 1990; 8 (4): 299–303. DOI: 10.1016/0264-410x(90)90083-x.
- Bahnemann H. G. Binary ethyleneimine as an inactivant for foot-and-mouth disease virus and its application for vaccine production. *Arch. Virol.* 1975; 47 (1): 47–56. DOI: 10.1007/BF01315592.
- Михалишин Д. В. Разработка технологии изготовления эмульсионной вакцины против ящура сельскохозяйственных животных: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Владимир; 2021. 39 с.
- Улулов Н. А. Влияние буферного раствора на инактивацию вируса ящура формальдегидом. *Ветеринария*. 1974; 9: 38–39.

Таблица 6

Иммуногенная активность бивалентной эмульсионной противоящурной вакцины для КРС

Table 6

Immunogenicity of bivalent emulsion FMD vaccine for cattle

Характеристика вакцины	Прививная доза (см ³)	Наличие генерализации		ПД ₅₀	
		A	O	A	O
Эмульсионная на основе адьюванта Montanide™ ISA 206; Антиген: по типу O – 4 мкг, по типу A – 4 мкг	2,0	–	–	10,08	10,08
		–	–		
		–	–		
		–	–		
	0,5	–	–		
		–	–		
		–	–		
		–	+		
	0,12	+	–		
		+	+		
		+	+		
		+	+		
+		+			
Контроль		+	+		

«–» отсутствие генерализации (no podal generalization);

«+» наличие генерализации (podal generalization).

14. Улулов Н. А., Дудников А. И. Изучение активности химических препаратов при инактивации вируса ящура. *Актуальные проблемы ветеринарной вирусологии: тезисы докладов научной конференции ВНИИ. Владимир; 1983; 34–35.*

15. Улулова Т. Н., Улулов Н. А., Рыбаков С. С., Коропов В. Н., Дудников А. И. Сравнительное изучение инактивирующей активности азиридинов по отношению к вирусу ящура. *Актуальные проблемы ветеринарной вирусологии: тезисы докладов научной конференции ВНИИ. Владимир; 1983; 37–39.*

16. Warrington R. E., Cunliffe H. R., Bachrach H. L. Derivatives of aziridine as inactivants for foot-and-mouth disease virus vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 1973; 34 (8): 1087–1091. PMID: 4356910.

17. Улулов Н. А. Методика оценки инактивирующих свойств химических препаратов. Владимир; 1980. 4 с.

18. Barteling S. J. Development and performance of inactivated vaccines against foot and mouth disease. *Rev. Sci. Tech.* 2002; 21 (3): 577–588. DOI: 10.20506/rst.21.3.1361.

19. Aarthi D., Ananda Rao K., Robinson R., Srinivasan V. A. Validation of binary ethyleneimine (BEI) used as an inactivant for foot and mouth disease tissue culture vaccine. *Biologicals*. 2004; 32 (3): 153–156. DOI: 10.1016/j.biologics.2004.09.001.

20. Улулов Н. А., Дудников А. И., Михалишин В. В. Лапинизированная противоящурная вакцина ФГУ «ВНИИЗЖ». *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2008; 6: 323–340. eLIBRARY ID: 14933111.

21. Елькина Ю. С. Противоящурные вакцины типов О, Азия-1, А для формирования раннего иммунитета у животных: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Владимир; 2021. 21 с.

22. Еремец В. И., Большакова М. В., Фомина Г. А. и др. Изыскание эффективных инактиваторов при крупномасштабном производстве противоящурных вакцин. *Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов: тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 30-летию института (8–9 июня 2000 г.)*. Щелково; 2000; 52–54.

23. Поголева И. В., Шарыпов А. С., Шабалина Т. Н., Загладова С. В., Китова М. В., Антонов С. А. и др. Испытания эмульсионных вакцин на основе белых масел, полученных гидрокаталитической переработкой нефтяного сырья. *Ветеринария сегодня*. 2017; (4): 42–48.

24. Лозовой Д. А., Михалишин Д. В., Лёзова Т. Н., Михалишин В. В., Константинов А. В., Стариков В. А., Борисов А. В. Эффективность сорбированной вакцины против гетерологичных штаммов вируса ящура типа А. *Ветеринария*. 2016; 2: 16–19. eLIBRARY ID: 25522294.

25. Foot and mouth disease (infection with foot and mouth disease virus). In: *WOAH. Terrestrial Animal Health Code*. 2022; Chapter 3.1.8. Режим доступа: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.08_FMD.pdf.

REFERENCES

1. Sergeev V. A., Nepoklonov E. A., Aliper T. I. Viruses and viral vaccines. Moscow: Biblioteka; 2007. 524 p. (in Russ.)
2. Vallée H., Carré H., Rinjard P. Sur l'immunisation anti-aphteuse par le virus formolé. *Rev. gén. Méd. vét.* 1926; 35: 129–134. (in French)
3. Barteling S. J., Woortmeyer R. Formaldehyde inactivation of foot-and-mouth disease virus. Conditions for the preparation of safe vaccine. *Arch. Virol.* 1984; 80 (2–3): 103–117. DOI: 10.1007/BF01310652.
4. Gard S. Theoretical considerations in the inactivation of viruses by chemical means. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1960; 83: 638–648. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1960.tb40934.x.
5. Melvin P. A., Pryce J.-M. G. Production of viral antigens with N-ace-tyl-ethyleneimine. Patent No. US3318775A United States, Int. C12N7/00. Imperial Chemical Industries Ltd. Date of filing: 29.01.1963. Date of publication: 09.05.1967. Available at: <https://patents.google.com/patent/US3318775A/en>.
6. Ulupov N. A., Mikhailishin V. V., Gusev A. A., Lyozova T. N. Aminoethyl-etenimin – sredstvo inaktivatsii infektsionnosti virusa yashchura = Aminoethylethanolamine is an inactivating agent of foot and mouth disease virus infectivity. *Sovremennye aspekty veterinarnoi patologii zhivotnykh: materialy konferentsii, posvyashchennoi 40-letiyu so dnya osnovaniya VNIIZh (23–25 noyabrya 1998 g.) = Modern aspects of animal pathology: proceedings of the conference, devoted to 40th anniversary of ARRIAH (November 23–25, 1998).* Vladimir; 1998; 53–62. (in Russ.)
7. Pay T. W. F., Telling R. C., Kitchener B. L., Southern J. Some observations of FMD virus inactivation with acetyleneimine. In: *European Commission for the Control of Foot-and-Mouth Disease. Report of the Meeting of the Research Group of the Standing Technical Committee.* Rome: FAO; 1972; 81–86. Available at: <https://www.fao.org/3/ca9381en/ca9381en.pdf>.
8. Brown F., Crick J. Application of agar-gel diffusion analysis to a study of the antigenic structure of inactivated vaccines prepared from the virus of foot-and-mouth disease. *J. Immunol.* 1959; 82 (5): 444–447. PMID: 13641679.
9. Brown F., Hyslop N. St G., Crick J., Morrow A. W. The use of acetyleneimine in the production of inactivated foot-and-mouth disease vaccines. *J. Hyg. (Lond).* 1963; 61 (3): 337–344. DOI: 10.1017/s0022172400039620.
10. Bahnmann H. G. Inactivation of viral antigens for vaccine preparation with particular reference to the application of binary ethyleneimine. *Vaccine.* 1990; 8 (4): 299–303. DOI: 10.1016/0264-410x(90)90083-x.
11. Bahnmann H. G. Binary ethyleneimine as an inactivant for foot-and-mouth disease virus and its application for vaccine production. *Arch. Virol.* 1975; 47 (1): 47–56. DOI: 10.1007/BF01315592.
12. Mikhailishin D. V. Development of technology for manufacture of FMD emulsion vaccine: Author's Abstract of Thesis for degree of Doctor of Science (Veterinary Medicine). Vladimir; 2021. 39 p. (in Russ.)
13. Ulupov N. A. Vliyaniye bufernogo rastvora na inaktivatsiyu virusa yashchura formal'degidom = Effect of buffer solution on foot and mouth disease virus inactivation with formaldehyde. *Veterinariya.* 1974; 9: 38–39. (in Russ.)
14. Ulupov N. A., Dudnikov A. I. Izucheniye aktivnosti khimicheskikh preparatov pri inaktivatsii virusa yashchura = Study of chemical activity for foot and mouth disease virus inactivation. *Aktual'nye problemy veterinarnoi virusologii: tezisy dokladov nauchnoi konferentsii VNIYal = Topical issues of veterinary virology: conference paper abstracts of All-Russian FMD Research Institute scientific conference.* Vladimir; 1983; 34–35. (in Russ.)
15. Ulupova T. N., Ulupov N. A., Rybakov S. S., Koropov V. N., Dudnikov A. I. Sravnitel'noye izucheniye inaktiviruyushchei aktivnosti aziridinov po otnosheniyu k virusu yashchura = Comparative study of aziridine inactivating activities in relation to foot and mouth disease virus. *Aktual'nye problemy veterinarnoi virusologii: tezisy dokladov nauchnoi konferentsii VNIYal = Topical issues of veterinary virology: conference paper abstracts of All-Russian FMD Research Institute scientific conference.* Vladimir; 1983; 37–39. (in Russ.)
16. Warrington R. E., Cunliffe H. R., Bachrach H. L. Derivatives of aziridine as inactivants for foot-and-mouth disease virus vaccines. *Am. J. Vet. Res.* 1973; 34 (8): 1087–1091. PMID: 4356910.
17. Ulupov N. A. Evaluation technique of chemical inactivation properties. Vladimir; 1980. 4 p. (in Russ.)
18. Barteling S. J. Development and performance of inactivated vaccines against foot and mouth disease. *Rev. Sci. Tech.* 2002; 21 (3): 577–588. DOI: 10.20506/rst.21.3.1361.
19. Aarthi D., Ananda Rao K., Robinson R., Srinivasan V. A. Validation of binary ethyleneimine (BEI) used as an inactivant for foot and mouth disease tissue culture vaccine. *Biologicals.* 2004; 32 (3): 153–156. DOI: 10.1016/j.biologics.2004.09.001.
20. Ulupov N. A., Dudnikov A. I., Mikhailishin V. V. Lapinized foot-and-mouth disease vaccine of the FGI "ARRIAH" origin. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health.* 2008; 6: 323–340. eLIBRARY ID: 14933111. (in Russ.)
21. El'kina Yu. S. Vaccines against foot and mouth disease types O, Asia-1, A to induce early immunity in animals: Author's Abstract of Thesis for degree of Candidate of Science (Veterinary Medicine). Vladimir; 2021. 21 p. (in Russ.)
22. Eremets V. I., Bol'shakova M. V., Fomina G. A., et al. Izyskanie effektivnykh inaktivantov pri krupnomasshtabnom proizvodstve protivoyashchurnykh vaktsin = Search for effective inactivating agents in large-scale production of foot and mouth disease vaccines. *Nauchnye osnovy proizvodstva veterinarnykh biologicheskikh preparatov: tezisy dokladov Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii, posvyashchennoi 30-letiyu instituta (8–9 iyunya 2000 g.) = Scientific basis for production of veterinary biological products: conference paper abstracts of All-Russian Scientific and Practical Conference devoted to 30th Anniversary of the Institute (June 8–9, 2000).* Shchelkovo; 2000; 52–54. (in Russ.)
23. Pigoleva I. V., Sharypov A. S., Shabalina T. N., Zaglyadova S. V., Kitova M. V., Antonov S. A., et al. Testing of emulsion vaccines based on white oils obtained as a result of hydrocatalytic processing of oilstock. *Veterinary Science Today.* 2017; (4): 42–48. (in Russ.)
24. Lozovoy D. A., Mikhailishin D. V., Lyozova T. N., Mikhailishin V. V., Konstantinov A. V., Starikov V. A., Borisov A. V. Laboratory studying efficacy of sorbate vaccine against heterologous strains of type A FMD virus. *Veterinariya.* 2016; 2: 16–19. eLIBRARY ID: 25522294. (in Russ.)
25. Foot and mouth disease (infection with foot and mouth disease virus). In: *WOAH. Terrestrial Animal Health Code.* 2022; Chapter 3.1.8. Available at: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.08_FMD.pdf.

Поступила в редакцию / Received 25.01.2023

Поступила после рецензирования / Revised 28.02.2023

Принята к публикации / Accepted 20.03.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

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

Михалишин Валерий Васильевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ» г. Владимир, Россия; *AuthorID*: 768290, *Scopus Author ID*: 14027142200, e-mail: mihalishin@arriah.ru.

Гочмурадов Ыхлас Мурадович, аспирант, ветеринарный врач лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2508-8411>, e-mail: gochmuradov@arriah.ru.

Елькина Юлия Сергеевна, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник лаборатории профилактики ящура ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, e-mail: elkina_ys@arriah.ru.

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

Valery V. Mikhailishin, Doctor of Science (Veterinary Medicine), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; *AuthorID*: 768290, *Scopus Author ID*: 14027142200, e-mail: mihalishin@arriah.ru.

Ykhlal M. Gochmuradov, Postgraduate Student, Veterinarian, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2508-8411>, e-mail: gochmuradov@arriah.ru.

Yulia S. El'kina, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for FMD Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-2986-8992>, e-mail: elkina_ys@arriah.ru.



Отработка режима низкотемпературной консервации штаммов *Bacillus anthracis*

А. П. Родионов, Е. А. Артемьева, Л. А. Мельникова, Д. М. Сахибуллина

ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности» (ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»), г. Казань, Республика Татарстан, Россия

РЕЗЮМЕ

Ключевой проблемой использования чистых культур микроорганизмов является их хранение, транспортировка, восстановление жизнеспособности после длительной консервации с сохранением ценных биологических свойств. Применяемые в настоящее время противосибирезывенные вакцины создаются с использованием различных штаммов *Bacillus anthracis*. На сегодняшний день штаммы возбудителя сибирской язвы, согласно данным паспортов, консервируют в 30–40-процентных растворах глицерина, позволяющих сохранять достаточное количество жизнеспособных клеток, а также свойства возбудителя в течение трех лет. Очевидно, что разработка способа консервации штаммов *Bacillus anthracis* для более продолжительного хранения возбудителя является актуальной задачей. Целью работы было отработать режим низкотемпературной консервации штаммов *Bacillus anthracis*, обеспечивающий сохранность жизнеспособности и биологических свойств возбудителя. Для проведения исследований были отобраны два вакцинных штамма *Bacillus anthracis*: К-СТИ-79 и 55-ВНИИВВиМ, а также две криопротекторные среды: № 1 – 15%-й раствор глицерина с 15%-м раствором глюкозы и № 2 – 30%-й нейтральный раствор глицерина на физиологическом растворе. На первом этапе были изучены биологические свойства штаммов и подсчитано количество жизнеспособных клеток. После чего штаммы были помещены на низкотемпературную консервацию при минус 40 и минус 70 °C. Через 6 месяцев хранения изучали сохранность их жизнеспособности и биологических свойств при трех режимах разморозки: при комнатной температуре (22 ± 2) °C, на водяной бане при температуре (37 ± 1) °C и в бытовом холодильнике при температуре (6 ± 2) °C. Было установлено, что наиболее подходящим режимом явилось хранение клеток при минус 70 °C и размораживание на водяной бане при (37 ± 1) °C. Дальнейшие исследования будут направлены на установление максимально возможной длительности хранения штаммов при низкотемпературном режиме консервации, при которой сохраняются жизнеспособность и биологические свойства возбудителя.

Ключевые слова: сибирская язва, *Bacillus anthracis*, штаммы, низкотемпературная консервация

Благодарность: Работа выполнена за счет средств ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ» в рамках научно-исследовательской работы по теме «Коллекционирование, поддержание, пополнение и хранение штаммов возбудителей особо опасных болезней (ООБ), организация их учета, проведение исследований по изучению биологических свойств и обеспечение предприятий агропромышленного комплекса штаммами возбудителей ООБ».

Для цитирования: Родионов А. П., Артемьева Е. А., Мельникова Л. А., Сахибуллина Д. М. Отработка режима низкотемпературной консервации штаммов *Bacillus anthracis*. Ветеринария сегодня. 2023; 12 (2): 171–177. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-171-177.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Для корреспонденции: Родионов Александр Павлович, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», 420075, Россия, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок-2, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com.

Optimizing a low-temperature preservation technique for *Bacillus anthracis* strains

A. P. Rodionov, E. A. Artemeva, L. A. Melnikova, D. M. Sahibullina

FSBSI "Federal Center for Toxicological, Radiation and Biological Safety" (FSBSI "FCTRBS-ARRVI"), Kazan, Republic of Tatarstan, Russia

SUMMARY

The use of pure microbial cultures is associated with the following key challenges: storage, transportation and resuscitation after a long-term preservation. The currently used anthrax vaccines are produced using various strains of *Bacillus anthracis*. According to the storage passport data, anthrax strains are now stored in 30–40% glycerin solutions, which helps to preserve a sufficient number of viable cells without losses to their pathogenic properties for three years. It is obviously an urgent task to develop a long-term preservation technique for *Bacillus anthracis* strains. The aim of this study was to optimize a low-temperature preservation method for *Bacillus anthracis* strains that ensures viability and no losses to biological properties of the pathogen. Two vaccine strains of *Bacillus anthracis* were selected for the research: i.e. K-STI-79 and 55-VNIIVViM and two cryoprotective media (No. 1 – 15% glycerin solution with 15% glucose solution and No. 2 – 30% neutral glycerin solution in saline solution). At first biological properties of the strains were studied and the number of viable cells was calculated. Later on, the strains were placed into low-temperature preservation facilities, at the temperature of –40 and –70 °C. Six months later, the effect of three thawing cycles on viability and biological properties of the agent was tested: i.e. at room temperature (22 ± 2) °C, in a water bath at a temperature of (37 ± 1) °C and in a household refrigerator at a temperature of (6 ± 2) °C. As demonstrated, the best option is to preserve the cells at –70 °C and thaw them in a water bath at (37 ± 1) °C. Further research will be focused on duration of the low-temperature preservation that will ensure appropriate viability and biological properties of the pathogen.

Keywords: anthrax, *Bacillus anthracis*, strains, low-temperature preservation

Acknowledgment: The work was carried out using the funds of the FSBSI "FCTRBS-ARRVI" within the research "Collecting, maintaining, replenishing and storing strains of highly dangerous diseases (HDD), keeping records of them, studying their biological properties and providing agro-industry companies with HDD strains".

For citation: Rodionov A. P., Artemeva E. A., Melnikova L. A., Sahibullina D. M. Optimizing a low-temperature preservation technique for *Bacillus anthracis* strains. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 171–177. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-171-177.

Conflict of interests: The authors declare that there is no conflict of financial/non-financial interests associated with the paper.

For correspondence: Alexander P. Rodionov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", 420075, Russia, Republic of Tatarstan, Kazan, Nauchnyi gorodok-2, e-mail: alexandrjetspets@gmail.com.

ВВЕДЕНИЕ

Применение чистых культур штаммов микроорганизмов лежит в основе всех исследований в области инфекционных заболеваний, фундаментальной микробиологии, структурной и молекулярной биологии, а также имеет решающее значение в биотехнологии и биологической промышленности [1, 2]. Ключевой проблемой использования чистых культур микроорганизмов является их хранение, транспортировка, восстановление жизнеспособности после длительной консервации с сохранением ценных фенотипических и генотипических свойств [3, 4].

Подбор методов консервации и их адаптация к конкретному виду микроорганизма является важной задачей коллекций микроорганизмов, обеспечивающих научно-исследовательские лаборатории и биологические предприятия ценными штаммами возбудителей заболеваний [5]. Оптимально подобранные методы и режимы консервации обеспечивают сохранность жизнеспособности и биологических свойств конкретных штаммов микроорганизмов в течение длительного времени. Для этих целей в коллекционных центрах применяются различные способы консервации: субкультивирование, хранение под минеральным маслом, в воде и водно-солевых растворах, высушивание на твердых носителях, низкотемпературная консервация (от минус 10 до минус 80 °C и ниже), криоконсервация (хранение в жидком азоте при температуре минус 196 °C) и лиофилизация [6]. Из длительных методов хранения в лабораториях наиболее часто используют методы низкотемпературной консервации и лиофилизации.

Низкотемпературная консервация микроорганизмов представляет собой замораживание чистых культур бактерий или вирусов в криопротекторной среде, обеспечивающей защиту микробов от кристаллов льда в процессе хранения, замораживания и оттаивания [7, 8]. Срок хранения биологического материала при этом зависит от температуры хранения и скорости охлаждения/оттаивания [9]. Во многих коллекционных центрах бактериальные культуры успешно хранятся в современных морозильных камерах с температурным режимом до минус 86 °C [6].

Лиофилизация – это процесс высушивания биоматериалов из замороженного состояния, при котором вода испаряется в условиях вакуума, минуя жидкую фазу, что позволяет сохранять структуру объекта, подвергающегося лиофилизации [7]. На сегодняшний день лиофилизация признается наиболее продолжительным методом хранения микроорганизмов, который,

кроме того, позволяет удобно транспортировать лиофилизированный материал [10].

Низкотемпературная консервация является более доступным методом, поскольку не требует наличия сложного оборудования (кроме морозильной камеры), тогда как лиофилизация требует более специализированного технического обеспечения и наличия инженерно-технического персонала соответствующего уровня [11]. Данный метод позволяет хранить клетки микроорганизмов без потери их свойств до 10 лет [5].

В отечественной и зарубежной литературе описаны исследования по хранению штаммов микроорганизмов при низких температурах, которые проводятся в основном на патогенных биологических агентах III–IV групп или на клетках промышленно ценных микробов [12–15]. Однако разработка методов консервации микроорганизмов, относящихся к I–II группам патогенности, необходима в не меньшей степени.

Большинство особо опасных заболеваний были побеждены человечеством посредством разработки различных иммунобиологических препаратов, основой в производстве которых являются чистые культуры микроорганизмов [16–19]. Сибирская язва – особо опасное зооантропонозное заболевание, широко распространенное во многих странах, возбудителем которого является спорообразующий микроорганизм *Bacillus anthracis* [20]. Относительное благополучие по данному заболеванию в нашей стране достигнуто путем проведения ежегодной вакцинации, охватывающей все поголовье восприимчивых животных, а также людей, подверженных возможному риску заражения данным патогеном [21]. Иммунизация животных и людей проводится вакцинами, созданными на основе живых клеток *B. anthracis* штаммов 55-ВНИИВВиМ и СТИ-1 соответственно [22]. Сохранение свойств штаммов данного возбудителя, способствующих выработке напряженного противосибиреязвенного иммунитета, является необходимой и стратегически важной задачей для обеспечения биологической безопасности нашей страны.

В настоящее время штаммы возбудителя сибирской язвы хранятся в коллекционных центрах в лиофилизированном виде или в 30–40-процентных растворах глицерина в запаянных ампулах. Лиофилизация клеток *B. anthracis* позволяет хранить их в течение десятилетий, однако недавние исследования отечественных авторов продемонстрировали, что лиофилизация штаммов возбудителей особо опасных болезней не позволяет добиться необходимого уровня биологической безопасности в процессе работы. Это связано с тем, что в процессе

лиофилизации культур создается облако аэрозоля, в котором содержатся клетки лиофилизируемого возбудителя [23]. Консервация *B. anthracis* в растворах глицерина является более безопасным способом, однако он позволяет хранить штаммы возбудителя не более 3 лет (согласно паспортным данным). В отечественной и зарубежной литературе не представлены сведения о хранении штаммов *B. anthracis* методом низкотемпературной консервации. Тем не менее, основываясь на известных данных [5, 6, 8], можно полагать, что этот способ позволит сделать манипуляции с культурой при консервации более безопасными, чем при лиофилизации, и сохранять жизнеспособность возбудителя более длительное время, чем при хранении штаммов в растворах глицерина. Вышеизложенные данные демонстрируют актуальность проведения работ, направленных на изыскание режима низкотемпературной консервации штаммов *B. anthracis*. Новизна работы заключается в сравнительном изучении сохранности жизнеспособных клеток *B. anthracis* и стабильности их биологических свойств при нескольких режимах низкотемпературной консервации с применением двух криопротекторных сред.

Исходя из вышесказанного, целью настоящей работы было отработать режим низкотемпературной консервации штаммов *B. anthracis*, обеспечивающий сохранность жизнеспособности и биологических свойств возбудителя.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Штаммы. В работе использовали два штамма возбудителя сибирской язвы: К-СТИ-79 и 55-ВНИИВВиМ, хранящиеся в коллекции в 30- и 40-процентном глицерине соответственно. Данные штаммы были отобраны для работы, исходя из соображений безопасности, так как являются вакцинными, сохраняя при этом все свойства возбудителя, за исключением капсулообразования.

Питательные среды: мясо-пептонный агар (МПА), мясо-пептонный бульон (МПБ), 5%-й кровяной МПА, 12%-й желатин, обезжиренное молоко, среда ГКИ, бульон Хоттингера производства ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ».

Реактивы. В работе применяли сыворотку крови лошадей неспецифическую неконсервированную производства ФКП «Курская биофабрика фирма – «БИОК» (Россия); генцианвиолет (ЧДА), фуксин основной (ЧДА), йод кристаллический (ЧДА), глюкозу кристаллическую (ЧДА), глицерин (ЧДА) производства ООО НПО «ТатХимПродукт» (Россия).

Оборудование. Работу с культурой осуществляли в боксе микробиологической безопасности БАВ-«Ламинар-С»-«Protect»-1,2 (ЗАО «Ламинарные системы», Россия). Посевы культивировали в термостате вертикальном водяном ТВ-40 (Россия). Микроскопию мазков проводили с использованием микроскопа МИКМЕД-5 (АО «ЛОМО», Россия). Центрифугирование осуществляли в настольной центрифуге ОПН-8 (ОАО «ТНК «Дастан», Киргизия).

Методы. Перед низкотемпературной консервацией штаммов проводили изучение их биологических свойств, указанных в паспортах, согласно МУК 4.2.2413-08 «Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы»¹.

После проверки свойств готовили суспензии клеток споровой формы в физиологическом растворе. Концентрацию жизнеспособных клеток в суспензиях определяли путем высева на МПА с последующим подсчетом количества колониеобразующих единиц (КОЕ)².

Затем приготовленную суспензию центрифугировали и удаляли надосадок. Осевшие клетки смешивали с 1 см³ криопротекторной среды № 1 (15%-й раствор глицерина с 15%-м раствором глюкозы) и криопротекторной среды № 2 (30%-й нейтральный раствор глицерина на физиологическом растворе) и помещали в пластиковые криопробирки с закручивающимися крышками. После добавления защитных сред пробирки с полученной взвесью аккуратно вращали по вертикальной оси, выдерживали в течение 30 мин при комнатной температуре для лучшего смешивания среды с клетками и помещали на низкотемпературную консервацию при минус 40 и минус 70 °С.

В качестве сравнения также была подготовлена суспензия клеток, которую поместили в 30- и 40-процентные растворы глицерина (К-СТИ-79 и 55-ВНИИВВиМ соответственно) и хранили при 4 °С в соответствии с рекомендациями паспортов на штаммы.

Размораживание консервированных клеток проводили через 6 месяцев после помещения на консервацию до полного исчезновения кристаллов льда в пробирках несколькими способами:

- при комнатной температуре (22 ± 2) °С;
- на водяной бане при температуре (37 ± 1) °С;
- в бытовом холодильнике при температуре (6 ± 2) °С.

После размораживания делали последовательные десятикратные разведения в 0,9%-м физиологическом растворе с дальнейшим посевом полученных разведений на чашки Петри и подсчетом КОЕ. Для каждой пробы посев осуществляли в 5 чашек Петри. Биологические свойства изучаемых штаммов исследовали, как описано выше.

Для оценки статистической значимости полученных результатов использовали U-критерий Манна – Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,01$ (после пересчета на число сравнений). Количественные данные на рисунке 3 и в таблице 2 представлены в виде $M \pm S_D$ (где M – среднее значение, S_D – стандартное отклонение) [24].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биологические свойства штаммов *B. anthracis* до низкотемпературной консервации. При оценке культурально-морфологических свойств установили, что в МПБ штаммы давали типичный для возбудителя сибирской язвы рост в виде комочка ваты на дне прозрачной среды (рис. 1А). При встряхивании к поверхности среды поднимались муаровые волны. К пятым суткам наблюдали образование ярко выраженного пристеночного кольца на поверхности среды. На МПА культуры давали рост в виде крупных сухих шероховатых колоний серовато-белого цвета с неровно очерченным краем (рис. 1В). Под малым увеличением микроскопа выросшие колонии имели волнистые края с отходящими извилистыми нитями – R-форма (рис. 2А). При микроскопии мазков, окрашенных по Граму, клетки

¹ МУК 4.2.2413-08 Лабораторная диагностика и обнаружение возбудителя сибирской язвы: методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2009. 69 с. Режим доступа: <https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293752/4293752010.pdf>.

² Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. 4-е изд. перераб. и доп. М.: Медицина; 1978. 394 с.

исследованных штаммов представляли собой цепочки из крупных грамположительных палочковидных бактерий, образующих споры (рис. 2В).

При изучении подвижности было выявлено, что культуры подвижностью не обладают. Инкубация клеток на 5%-м кровяном агаре в течение 24 ч позволила установить отсутствие гемолитической активности. Штаммы давали типичный рост в виде перевернутой елочки в 12%-м желатине с характерным разжижением поверхности среды в виде чулка через пять суток. Культуры свертывали и пептонизировали обезжиренное молоко. При выращивании клеток на среде ГКИ с последующей окраской по методу Ребигера выявили отсутствие способности к капсулообразованию. Постановка теста «жемчужное ожерелье» показала, что штаммы чувствительны к пенициллину.

В результате изучения биологических свойств вакцинных штаммов К-СТИ-79 и 55-ВНИИВВиМ *B. anthracis*

установлено, что все свойства соответствовали паспортным данным и, за исключением капсулообразования, типичны для возбудителя сибирской язвы (табл. 1).

Определение количества колониеобразующих единиц штаммов *B. anthracis* перед закладкой на низкотемпературную консервацию. Следующим этапом работы было определение количества КОЕ каждого штамма перед добавлением криопротекторных сред. Для этого были приготовлены суспензии клеток в физиологическом растворе. После чего были проведены десятикратные разведения клеток до 10^{-5} с последующим посевом на чашки Петри с МПА, культивированием при 37 °С в течение 24 ч и подсчетом выросших колоний.

Среднее количество КОЕ двух исследуемых штаммов представлено на рисунке 3.

После подсчета выросших колоний приготовленные суспензии были подвергнуты центрифугированию при

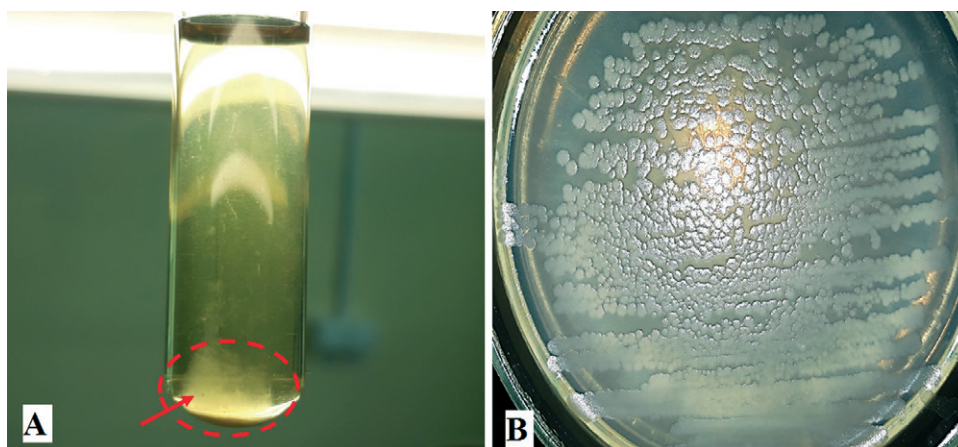


Рис. 1. Культуральные свойства штамма 55-ВНИИВВиМ *B. anthracis* через 24 ч культивирования:

А – рост культуры в виде комочка ваты (указано стрелкой) в МПБ;

В – рост колоний на МПА

Fig. 1. Culture properties of *B. anthracis* strain 55-VNIIVViM after 24-hour cultivation:

А – culture growth looks like a lump of cotton wool (indicated by an arrow) in MPB;

В – growth of colonies on MPA

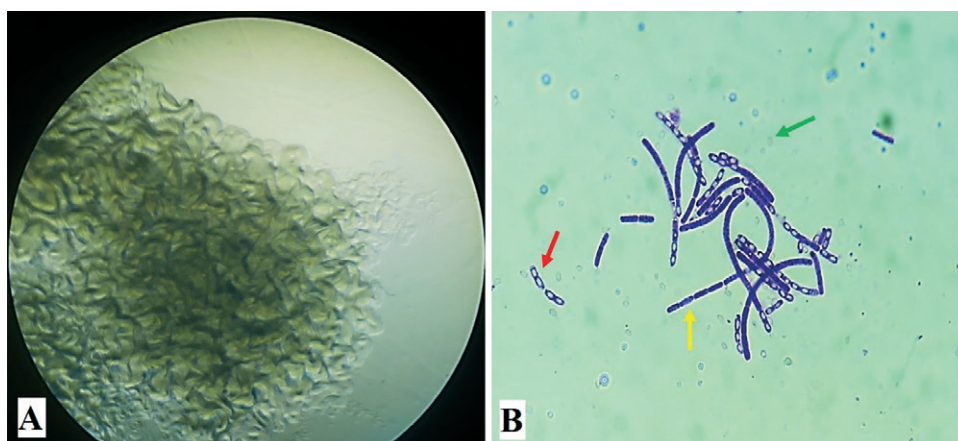


Рис. 2. Морфология колоний и форма клеток бактерий *B. anthracis* штамма 55-ВНИИВВиМ через 24 ч культивирования:

А – шероховатые R-формы колонии под малым увеличением (8 × 40);

В – окраска штамма по Граму (желтая стрелка – вегетативные формы клеток; красная – формирующиеся споры; зеленая – споры)

Fig. 2. Colony morphology and shape of *B. anthracis* bacteria strain 55-VNIIVViM cells after 24-hour cultivation:

А – rough R-shaped colonies under low magnification (8 × 40);

В – Gram staining of the strain (yellow arrow – vegetative cell forms; red – emerging spores; green – spores)

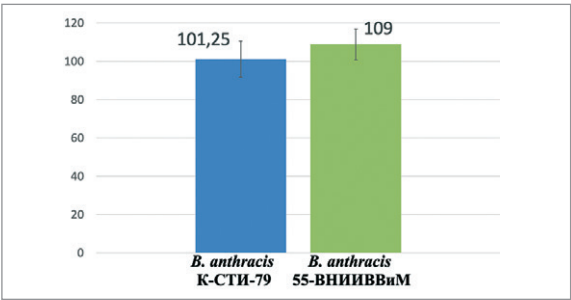


Рис. 3. Количество КОЕ ($M \pm S_d$) штаммов К-СТИ-79 и 55-ВНИИВВиМ *B. anthracis* до закладки на низкотемпературную консервацию

Fig. 3. CFU ($M \pm S_d$) of *B. anthracis* strains K-STI-79 and 55-VNIIVViM before a low-temperature preservation

4500 об/мин в течение 30 мин. Осевшие клетки смешали с 1 см³ криопротекторов, поместили на консервацию при минус 40 и минус 70 °С, а также в 30- и 40-процентный растворы глицерина при (6 ± 2) °С.

В качестве криозащитных сред были выбраны растворы 15%-го глицерина с 15%-й глюкозой и 30%-го глицерина. Выбор данных криопротекторов был обоснован теми факторами, что глицерин является наиболее широко используемой защитной средой. Начало применения растворов глицерина в различной концентрации при консервации патогенных прокариот и вирусов было положено еще в начале двадцатого века [25]. В настоящее время его использование в криоконсервации является «золотым стандартом» [26]. Применение раствора глюкозы обусловлено тем, что многие зарубежные авторы, занимающиеся данной тематикой, отмечали, что при добавлении в смесь криопротекторов от 1 до 18% глюкозы улучшается выживаемость разных видов микроорганизмов [8, 25]. Основанием для выбора сочетанного использования данных растворов в качестве защитной среды в нашем исследовании служило то, что глюкоза относится к протекторам, проникающим через клеточную стенку, но не проходящим через цитоплазматиче-

Таблица 1
Биологические свойства вакцинных штаммов К-СТИ-79 и 55-ВНИИВВиМ *B. anthracis*

Table 1
Biological properties of *B. anthracis* vaccine strains K-STI-79 and 55-VNIIVViM

Показатель/свойство	<i>B. anthracis</i> К-СТИ-79	<i>B. anthracis</i> 55-ВНИИВВиМ
Подвижность	–	–
Гемолитические свойства	–	–
Протеолитические свойства:		
12%-й желатин	+	+
обезжиренное молоко	+	+
Капсулообразование	–	–
Чувствительность к пенициллину	+	+
Спорообразование	+	+

скую мембрану. В то время как глицерин обладает возможностью проникновения через цитоплазматическую мембрану клеток [25]. Таким образом, можно предположить, что совместное использование данных растворов должно способствовать большей выживаемости замораживаемых клеток.

Сравнительная оценка эффективности низкотемпературной консервации штаммов *B. anthracis*. Результаты проделанной работы показали, что жизнеспособность клеток штаммов возбудителя сибирской язвы лучшим образом сохранялась при их консервации температурой минус 70 °С с дальнейшей разморозкой на водяной бане при 37 °С (табл. 2). При этом значительной разницы в сохранности жизнеспособности клеток при консервации их в разных криопротекторах обнаружено не было. Количество колониеобразующих единиц статистически значимо не отличалось от данного показателя при хранении в растворах глицерина в холодильной камере. При оценке полученных результатов следует учитывать тот факт, что подготовка клеток к низкотемпературной консервации сопряжена с их большой потерей во время центрифугирования, перед смешиванием с криопротектором, а также в процессе

Таблица 2
Количество КОЕ клеток *B. anthracis* после хранения при низких температурах в течение 6 месяцев ($M \pm S_d$)

Table 2
The CFU number of *B. anthracis* cells after a low temperature preservation for 6 months ($M \pm S_d$)

Криопротектор	Количество КОЕ до замораживания	Температура хранения	Количество КОЕ			
			после размораживания при температуре			после хранения в 30/40%-м глицерине при температуре
			(22 ± 2) °С	(37 ± 1) °С	(6 ± 2) °С	(6 ± 2) °С
B. anthracis 55-ВНИИВВиМ						
Среда № 1	109,00 ± 8,04	–40 °С	93,40 ± 1,81*	94,20 ± 2,58*	87,80 ± 5,71*	101,80 ± 3,96
		–70 °С	100,40 ± 2,96	101,60 ± 3,43	90,80 ± 2,86*	
Среда № 2		–40 °С	92,20 ± 2,77*	93,80 ± 3,11*	88,40 ± 4,77*	
		–70 °С	101,00 ± 2,12	102,40 ± 2,40	91,40 ± 3,20*	
B. anthracis К-СТИ-79						
Среда № 1	101,20 ± 9,50	–40 °С	94,20 ± 4,43	94,60 ± 3,64	88,00 ± 2,73*	101,20 ± 9,55
		–70 °С	100,20 ± 6,26	98,00 ± 4,47	86,40 ± 5,31	
Среда № 2		–40 °С	92,60 ± 4,82	92,00 ± 1,87*	90,20 ± 3,70	
		–70 °С	101,00 ± 4,30	97,40 ± 5,12	92,80 ± 3,34	

* статистически значимое различие ($p \leq 0,01$).

* statistically significant difference ($p \leq 0.01$).

замораживания и оттаивания, чего не происходит во время консервации штаммов в условиях бытового холодильника. Это позволяет говорить о том, что подобранная схема консервации позволяет сохранять большее число клеток, закладываемых на хранение, чем при остальных режимах.

Клетки штаммов, хранящиеся при температуре минус 40 °С, при всех режимах оттаивания сохранили свою жизнеспособность значительно меньше. Однако размораживание при 37 °С позволило сохранить большее количество жизнеспособных клеток. Полученные результаты можно объяснить тем, что режим хранения при температуре минус 40 °С не позволяет добиться полной остановки процесса рекристаллизации. Размораживание хранившихся клеток в условиях холодильника значительно удлиняет процесс оттаивания. Это также может способствовать более длительной рекристаллизации льда, что является одним из главных факторов, разрушающих замороженные клетки [8, 26].

После подсчета количества колониеобразующих единиц клеток, подвергшихся низкотемпературной консервации, была проведена оценка сохранности их биологических свойств, которая продемонстрировала полное соответствие паспортным данным.

Таким образом, можно сказать, что подобранный режим низкотемпературной консервации штаммов возбудителя сибирской язвы при температуре минус 70 °С является перспективным для продолжения работы. Дальнейшие исследования будут направлены на изучение длительности хранения штаммов при низкотемпературном режиме консервации с сохранением жизнеспособности и биологических свойств возбудителя.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования продемонстрировали, что культуры возбудителя сибирской язвы, хранившиеся при температуре минус 40 и минус 70 °С, сохранили свою жизнеспособность и биологические свойства в течение 6 месяцев. Сопоставление результатов консервации клеток при двух температурных режимах позволило сделать вывод, что более предпочтительным является хранение при минус 70 °С.

Сравнительная оценка хранения клеток *B. anthracis* в двух растворах защитных сред на данном этапе исследований не позволила выявить наиболее эффективный из них. Данная работа будет повторена через более длительные промежутки времени хранения, в результате чего предполагается выбрать оптимальный криопротектор.

При сравнении трех методов размораживания клеток исследованных штаммов было установлено, что наиболее щадящим режимом явился способ оттаивания на водяной бане при температуре 37 °С, который позволил сохранить наибольшее число жизнеспособных клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Heylen K., Hoefman S., Vekeman B., Peiren J., De Vos P. Safeguarding bacterial resources promotes biotechnological innovation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2012; 94: 565–574. DOI: 10.1007/s00253-011-3797-y.
- Никитина З. К., Гордонова И. К., Насибов Э. М. Изучение коллагенолитических свойств коллекционных штаммов микромицетов при длительном хранении. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* 2021; 24 (3): 33–39. DOI: 10.29296/25877313-2021-03-05.
- Артемяева Е. А., Мельникова Л. А., Родионов А. П. Опыт длительного хранения референтного штамма C-141 возбудителя мелиоидоза (*Burkholderia pseudomallei*). *Ветеринария сегодня.* 2022; 11 (3): 268–272. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-268-272.

- Артемяева Е. А., Мельникова Л. А., Родионов А. П. Особенности подготовки и выдачи производственного штамма 5584 *Burkholderia mallei* в соответствии с требованиями биологической безопасности. *Ветеринария сегодня.* 2021; 10 (3): 243–247. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-243-247.
- Грачева И. В., Осин А. В. Низкотемпературная консервация коллекционных штаммов холерных вибрионов. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2014; (4): 39–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-39-42.
- Похиленко В. Д., Баранов А. М., Детушев К. В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития. *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки.* 2009; 4 (12): 99–121. EDN: LAKPFХ.
- Fissore D., McCoy T. Editorial: freeze-drying and process analytical technology for pharmaceuticals. *Front. Chem.* 2018; 6:622. DOI: 10.3389/fchem.2018.00622.
- Грачева И. В., Валова Т. В., Григорьева Г. В. Традиционные и новые защитные среды для низкотемпературной консервации бактерий. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2011; (4): 36–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-4(110)-36-40.
- Молчанова Е. В., Агеева Н. П. Научно-методические аспекты совершенствования деятельности коллекции патогенных микроорганизмов Волгоградского научно-исследовательского противочумного института. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2018; 95 (3): 117–126. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-3-117-126.
- Cui S., Hu K., Qian Z., Mao B., Zhang Q., Zhao J., et al. Improvement of freeze-dried survival of *Lactiplantibacillus plantarum* based on cell membrane regulation. *Microorganisms.* 2022; 10 (10):1985. DOI: 10.3390/microorganisms10101985.
- Малахаева А. Н., Ляшова О. Ю., Плотников О. П., Осин А. В. Хранение штаммов *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ и *Brucella abortus* 19 ВА в жизнеспособном состоянии путем их глубокого замораживания. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2015; (1): 63–66. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-1-63-66.
- Савкина О. А., Терновской Г. В., Локачук М. Н., Павловская Е. Н., Сафронова В. И. Криоконсервация – перспективный метод хранения промышленно ценных штаммов молочнокислых бактерий и дрожжей. *Сельскохозяйственная биология.* 2014; 49 (4): 112–119. DOI: 10.15389/agrobiology.2014.4.112rus.
- Ермолова В. П., Гришечкина С. Д., Нижников А. А. Активность энтомопатогенных штаммов-продуцентов *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* при разных методах хранения. *Сельскохозяйственная биология.* 2018; 53 (1): 201–208. DOI: 10.15389/agrobiology.2018.1.201rus.
- Liu M., Chen C., Yu J., Zhang H., Liang L., Guo B., et al. The gelatin-based liquid marbles for cell cryopreservation. *Mater. Today Bio.* 2022; 17:100477. DOI: 10.1016/j.mtbio.2022.100477.
- Ali P., Fucich D., Shah A. A., Hasan F., Chen F. Cryopreservation of cyanobacteria and eukaryotic microalgae using exopolysaccharide extracted from a glacier bacterium. *Microorganisms.* 2021; 9 (2):395. DOI: 10.3390/microorganisms9020395.
- Сидорчук А. А. История создания вакцин и вакцинации. Часть II. Оспа и сибирская язва. *Российский ветеринарный журнал.* 2018; (6): 12–14. DOI: 10.32416/article_5c050ab91c6a36.36611669.
- Сидорчук А. А. История создания вакцин и вакцинации. Часть III. Бешенство и туберкулез. *Российский ветеринарный журнал.* 2019; (2): 25–28. DOI: 10.32416/article_5cd16d076a75a6.23029629.
- Сидорчук А. А. История создания вакцин и вакцинации. Часть IV. Чума и контактная пневмония крупного рогатого скота. *Российский ветеринарный журнал.* 2019; (6): 35–38. DOI: 10.32416/2500-4379-2019-2019-6-35-38.
- Сидорчук А. А. История создания вакцин и вакцинации. Часть V. Ящур. *Российский ветеринарный журнал.* 2020; (2): 27–30. DOI: 10.32416/2500-4379-2020-2-27-30.
- Родионов А. П., Артемяева Е. А., Мельникова Л. А., Косарев М. А., Иванова С. В. Особенности природной очаговости сибирской язвы и экологии *Bacillus anthracis*. *Ветеринария сегодня.* 2021; (2): 151–158. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-151-158.
- Лягоскин И. В., Васина Н. К., Егорова И. Ю., Селянинов Ю. О. Конструирование сибиреязвенных эритроцитарных антигенных диагностикомов. *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук.* 2012; (6): 73–76. EDN: PMBHLX.
- Егорова И. Ю., Севских Т. А., Селянинов Ю. О. Иммунобиологические свойства нового бескапсульного штамма *Bacillus anthracis* 363/11. *Биотехнология.* 2015; 31 (5): 34–40. EDN: VLDZXL.
- Жилченко Е. Б., Жаринова Н. В., Сердюк Н. С., Коняева О. А., Гаврилова О. Н. Обеспечение биологической безопасности при лиофилизации микроорганизмов I–II групп патогенности. *Здоровье населения и среда обитания – ЗНУСО.* 2019; (1): 46–50. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-310-1-46-50.
- Баврина А. П. Современные правила применения параметрических и непараметрических критериев в статистическом анализе

медико-биологических данных. *Медицинский альманах*. 2021; 1 (66): 64–73. EDN: IZXM8Z.

25. Hubálek Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*. 2003; 46 (3): 205–229. DOI: 10.1016/S0011-2240(03)00046-4.

26. Hasan M., Fayter A. E. R., Gibson M. I. Ice recrystallization inhibiting polymers enable glycerol-free cryopreservation of microorganisms. *Biomacromolecules*. 2018; 19 (8): 3371–3376. DOI: 10.1021/acs.biomac.8b00660.

REFERENCES

- Heylen K., Hoefman S., Vekeman B., Peiren J., De Vos P. Safeguarding bacterial resources promotes biotechnological innovation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2012; 94: 565–574. DOI: 10.1007/s00253-011-3797-y.
- Nikitina Z. K., Gordonova I. K., Nasibov E. M. Collagenolytic properties of micromycetes collection strains during long-term storage study. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2021; 24 (3): 33–39. DOI: 10.29296/25877313-2021-03-05. (in Russ.)
- Artemeva E. A., Melnikova L. A., Rodionov A. P. Long-term storage of C-141 reference strain of melioidosis agent (*Burkholderia pseudomallei*). *Veterinary Science Today*. 2022; 11 (3): 268–272. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-3-268-272.
- Artemeva E. A., Melnikova L. A., Rodionov A. P. Preparation and transfer of *Burkholderia mallei* production strain 5584 in accordance with the biosafety requirements. *Veterinary Science Today*. 2021; 10 (3): 243–247. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-3-38-243-247.
- Gracheva I. V., Osin A. L. Low-temperature conservation of collection cholera vibrio strains. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2014; (4): 39–42. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-39-42. (in Russ.)
- Pokhilenko V. D., Baranov A. M., Detushev K. V. Metody dlitel'nogo khraneniya kollekttsionnykh kul'tur mikroorganizmov i tendentsii razvitiya = Methods of long-term storage for collection microbial cultures and their optimization. *University proceedings. Volga region. Medical sciences*. 2009; 4 (12): 99–121. EDN: LAKPFX. (in Russ.)
- Fissore D., McCoy T. Editorial: freeze-drying and process analytical technology for pharmaceuticals. *Front. Chem.* 2018; 6:622. DOI: 10.3389/fchem.2018.00622.
- Gracheva I. V., Valova T. V., Grigor'eva G. V. Traditional and modern protective media for the low-temperature bacteria preservation. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2011; (4): 36–40. DOI: 10.21055/0370-1069-2011-4(110)-36-40. (in Russ.)
- Molchanova E. V., Ageeva N. P. Scientific and methodological support for development of pathogenic microorganism collection of Volgograd research institute for plague control. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2018; 95 (3): 117–126. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-3-117-126. (in Russ.)
- Cui S., Hu K., Qian Z., Mao B., Zhang Q., Zhao J., et al. Improvement of freeze-dried survival of *Lactiplantibacillus plantarum* based on cell membrane regulation. *Microorganisms*. 2022; 10 (10):1985. DOI: 10.3390/microorganisms10101985.
- Malakhaeva A. N., Lyashova O. Yu., Plotnikov O. P., Osin A. V. Maintenance of *Francisella tularensis* 15 RIEH and *Brucella abortus* 19 BA strains in a viable state by means of deep freezing. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2015; (1): 63–66. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-1-63-66. (in Russ.)

12. Savkina O. A., Ternovskoi G. V., Lokachuk M. N., Pavlovskaya E. N., Safonova V. I. Cryopreservation to be a progressive method for keeping up valuable strains of lactic acid bacteria and yeasts. *Agricultural Biology*. 2014; 49 (4): 112–119. DOI: 10.15389/agrobiology.2014.4.112rus. (in Russ.)

13. Ermolova V. P., Grishchikina S. D., Nizhnikov A. A. Activity of insecticidal *Bacillus thuringiensis* var. *Israelensis* strains stored by various methods. *Agricultural Biology*. 2018; 53 (1): 201–208. DOI: 10.15389/agrobiology.2018.1.201eng.

14. Liu M., Chen C., Yu J., Zhang H., Liang L., Guo B., et al. The gelatin-based liquid marbles for cell cryopreservation. *Mater. Today Bio*. 2022; 17:100477. DOI: 10.1016/j.mtbio.2022.100477.

15. Ali P., Fucich D., Shah A. A., Hasan F., Chen F. Cryopreservation of cyanobacteria and eukaryotic microalgae using exopolysaccharide extracted from a glacier bacterium. *Microorganisms*. 2021; 9 (2):395. DOI: 10.3390/microorganisms9020395.

16. Sidorchuk A. A. History of vaccines and vaccination. Part II. Pox and anthrax. *Russian Veterinary Journal*. 2018; (6): 12–14. DOI: 10.32416/article_5c050ab91c6a36.36611669. (in Russ.)

17. Sidorchuk A. A. History of vaccines and vaccination. Part III. Rabies and tuberculosis. *Russian Veterinary Journal*. 2019; (2): 25–28. DOI: 10.32416/article_5cd16d076a75a6.23029629. (in Russ.)

18. Sidorchuk A. A. History of vaccines and vaccination. Part IV. Rinderpest and contagious pleuropneumonia of cattle. *Russian Veterinary Journal*. 2019; (6): 35–38. DOI: 10.32416/2500-4379-2019-6-35-38. (in Russ.)

19. Sidorchuk A. A. History of vaccines and vaccination. Part V. Foot-and-mouth disease. *Russian Veterinary Journal*. 2020; (2): 27–30. DOI: 10.32416/2500-4379-2020-2-27-30. (in Russ.)

20. Rodionov A. P., Artemeva E. A., Melnikova L. A., Kosarev M. A., Ivanova S. V. Features of anthrax natural foci and *Bacillus anthracis* ecology. *Veterinary Science Today*. 2021; (2): 151–158. DOI: 10.29326/2304-196X-2021-2-37-151-158.

21. Lyagoskin I. V., Vasina N. K., Yegorova I. Yu., Selyaninov Yu. O. Constructing anthrax erythrocyte antigenic diagnostics. *Vestnik of the Russian agricultural science*. 2012; (6): 73–76. EDN: PMBHLX. (in Russ.)

22. Egorova I. Yu., Sevskii T. A., Selyaninov Yu. O. Immunobiological properties of new unencapsulated *Bacillus anthracis* 363/11 strain. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2016; 52 (8): 733–738. DOI: 10.1134/S0003683816080044.

23. Zhilchenko E. B., Zharinova N. V., Serdyuk N. S., Konyayeva O. A., Gavrilova O. N. Ensuring biological safety during lyophilization for microorganisms of I–II pathogenicity groups. *Public Health and Life Environment – PH&LE*. 2019; (1): 46–50. DOI: 10.35627/2219-5238/2019-310-1-46-50. (in Russ.)

24. Bavrina A. P. Modern rules for the use of parametric and nonparametric tools in the statistical analysis of biomedical data. *Medical Almanac*. 2021; 1 (66): 64–73. EDN: IZXM8Z. (in Russ.)

25. Hubálek Z. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*. 2003; 46 (3): 205–229. DOI: 10.1016/S0011-2240(03)00046-4.

26. Hasan M., Fayter A. E. R., Gibson M. I. Ice recrystallization inhibiting polymers enable glycerol-free cryopreservation of microorganisms. *Biomacromolecules*. 2018; 19 (8): 3371–3376. DOI: 10.1021/acs.biomac.8b00660.

Поступила в редакцию / Received 17.02.2023

Поступила после рецензирования / Revised 20.03.2023

Принята к публикации / Accepted 30.03.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Родионов Александр Павлович, кандидат ветеринарных наук, младший научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0853-5678>, e-mail: alexandrvtspets@gmail.com.

Артемяева Елена Александровна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-6204-6077>, e-mail: artemevaelena21@mail.ru.

Мельникова Лилия Арсентьевна, кандидат ветеринарных наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-0159-3843>, e-mail: vnivi@mail.ru.

Сахибуллина Дания Минзагитовна, старший лаборант лаборатории коллекции штаммов микроорганизмов ФГБНУ «ФЦТРБ-ВНИВИ», г. Казань, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2333-9704>.

Alexander P. Rodionov, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Junior Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0853-5678>, e-mail: alexandrvtspets@gmail.com.

Elena A. Artemeva, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-6204-6077>, e-mail: artemevaelena21@mail.ru.

Lilia A. Melnikova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Associate Professor, Leading Researcher, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-0159-3843>, e-mail: vnivi@mail.ru.

Daniya M. Sahibullina, Senior Laboratory Technician, Laboratory for Collection of Strains of Microorganisms, FSBSI "FCTRBS-ARRVI", Kazan, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2333-9704>.

DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-178-184
УДК 619:616.98:579.843.96:579.887.111:636.4:616-076:615.371



Свойства изолятов *Actinobacillus pleuropneumoniae*

В. А. Евграфова, О. В. Прунтова, Н. Б. Шадрова, А. М. Тимина

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

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты изучения биологических свойств (биохимические, протеомические, антигенные и патогенные) 6 изолятов *Actinobacillus pleuropneumoniae*, выделенных от больных свиней в животноводческих хозяйствах Российской Федерации. Протеомические свойства определяли посредством масс-спектрометрического анализа с использованием масс-спектрометра Autof MS 1000 (Autobio Diagnostics Co., Ltd, Китай): были построены белковые профили и определены характерные пики для каждого изолята. Установлено, что все масс-спектры изучаемых изолятов актинобацилл и референтного штамма *Actinobacillus pleuropneumoniae* DSM 13472 находятся в диапазоне m/z 2000–12 000 Да. Для всех изолятов и штамма *Actinobacillus pleuropneumoniae* общими были пики m/z : 2541 ± 2 ; 4267 ± 2 ; 5085 ± 2 ; 6450 ± 2 ; 7207 ± 4 ; 9408 ± 3 ; $11\,820 \pm 6$, при этом самая высокая интенсивность (100%) была зарегистрирована для пика 5085 ± 2 , который, как предполагаем, можно считать исключительной особенностью *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Принадлежность всех изолятов к виду *Actinobacillus pleuropneumoniae* и серотипам 2, 5 и 9 была подтверждена методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием видо- и серотип-специфичных праймеров. Патогенные свойства *Actinobacillus pleuropneumoniae* определяли при экспериментальном заражении белых мышей и поросят 2,5–3,0-месячного возраста. Все испытываемые изоляты были патогенны как для белых мышей, так и для свиней. Установлено, что из всех изучаемых изолятов наиболее высокая вирулентность характерна для изолята № 4, который относится к 5-му серотипу. Так, LD_{50} для белых мышей составила 4,19 lg м. к., для поросят – 5,49 lg м. к., что согласуется с данными других авторов, проводивших исследования патогенности актинобацилл, выделенных на территории Российской Федерации. Изоляты депонированы в коллекцию штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ».

Ключевые слова: актинобациллезная плевропневмония, изолят, свойства, полимеразная цепная реакция, масс-спектрометрия, патогенность

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках реализации отдельных мероприятий Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 гг. (соглашение № 075-15-2021-1054).

Для цитирования: Евграфова В. А., Прунтова О. В., Шадрова Н. Б., Тимина А. М. Свойства изолятов *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Ветеринария сегодня. 2023; 12 (2): 178–184. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-178-184.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Прунтова Ольга Владиславовна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ», 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец, e-mail: pruntova@arriah.ru.

Properties of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates

V. A. Evgrafova, O. V. Pruntova, N. B. Shadrova, A. M. Timina

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

SUMMARY

Results of tests of six *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates recovered from the diseased pigs kept in animal holdings located in the Russian Federation for their biological properties (biochemical, proteomic, antigenic and pathogenic ones) are presented in the paper. Proteomic properties were determined with mass-spectrometry using Autof MS 1000 mass-spectrometer (Autobio Diagnostics Co., Ltd, China): protein profiles were plotted and the peaks characteristic for each isolate were identified. Mass-spectra of tested *Actinobacillus* isolates and reference *Actinobacillus pleuropneumoniae* DSM 13472 strain were found to be in the m/z range of 2,000–12,000 Da. The following peaks (m/z) were common for all *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates and the strain: $2,541 \pm 2$; $4,267 \pm 2$; $5,085 \pm 2$; $6,450 \pm 2$; $7,207 \pm 4$; $9,408 \pm 3$; $11,820 \pm 6$. Therewith, the highest intensity (100%) was reported for the peak at $5,085 \pm 2$, that was supposed to be a specific feature of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. All isolates were confirmed to belong to *Actinobacillus pleuropneumoniae* species and to 2, 5 and 9 serotypes by real-time polymerase chain reaction using species-specific and serotype-specific primers. *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates were tested for their pathogenic properties by experimental infection of white mice and 2.5–3 month-old piglets. All tested isolates were pathogenic for both white mice and piglets. Isolate No. 4 belonging to serotype 5 was found to be the most virulent out of tested isolates. Thus, LD_{50} was 4.19 lg microbial cells for white mice and 5.49 lg microbial cells for piglets that was consistent to the data of other authors carried out tests of actinobacilli isolated in the Russian Federation for their pathogenicity. The isolates were deposited to the FGBI "ARRIAH" Collection of Microorganism Strains.

Keywords: porcine (*Actinobacillus*) pleuropneumonia, isolate, properties, polymerase chain reaction, mass-spectrometry, pathogenicity

Acknowledgements: The work was financially supported by the grant of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation and performed as part of the Federal Scientific and Technical Program of Genetic Technology Development in 2019–2027 (agreement No. 075-15-2021-1054).

For citation: Evgrafova V. A., Pruntova O. V., Shadrova N. B., Timina A. M. Properties of *Actinobacillus pleuropneumoniae* isolates. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (2): 178–184. DOI: 10.29326/2304-196X-2023-12-2-178-184.

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

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

ВВЕДЕНИЕ

Актинобациллезная плевропневмония (АПП) свиней широко распространена во многих странах мира и в Российской Федерации. Эта высококонтагиозная болезнь характеризуется внезапным началом, непродолжительным клиническим течением с фибрино-геморрагическими поражениями легких при острой форме или кашлем и снижением привеса при хронической инфекции свиней. Нередко АПП приводит к летальному исходу. К болезни восприимчивы свиньи всех возрастов, но наиболее чувствительны поросята 2–4-месячного возраста. Отличительной особенностью данного заболевания является его стационарность, которая обусловлена длительным периодом бактерионосительства в организме животных [1, 2]. Тяжесть заболевания зависит от нескольких факторов, наиболее важными из которых являются серотип *Actinobacillus pleuropneumoniae*, заражающая доза, сопутствующие инфекции и условия содержания животных [3–5].

В последние десятилетия в РФ наметилась тенденция к увеличению числа хозяйств, неблагополучных по АПП свиней, которое может быть объяснено такими причинами, как импорт племенных животных из Западной Европы и Канады и отсутствие АПП в перечне инфекций, от которых, согласно ветеринарным требованиям, должны быть свободны ввозимые в РФ живые свиньи [6–8].

В настоящее время существует ряд вакцин для профилактики АПП, подразделяющихся на бактериин-токсоидные, токсидные и на основе бактерины (целноклеточных бактерий). Бактерины обеспечивают защиту от гомологичного серовара и не защищают от заражения гетерологичными сероварами [9–13]. Вакцины на основе инактивированных токсинов Арх эффективны в снижении заболеваемости и проявлении клинических признаков, связанных с инфекцией, но они не способны предотвратить колонизацию возбудителя в легких, их использование представляет собой потенциальную угрозу инфицирования стада бессимптомными носителями [9, 11, 14]. Универсализация препарата против АПП, который сможет защитить от всех известных сероваров, является труднодостижимой задачей ввиду отсутствия перекрестного иммунитета. Наилучшим способом искоренения данного заболевания является выделение и идентификация возбудителя в конкретном неблагополучном по АПП хозяйстве, изучение его биологических свойств, изготовление вакцинного препарата и применение аутогенной вакцины в данном хозяйстве. Такие страны, как Франция,

США, Канада и др., применяют аутогенные препараты для борьбы с АПП [9, 15, 16]. Исходя из вышесказанного, выделение изолятов *A. pleuropneumoniae* от больных свиней в животноводческих хозяйствах РФ, изучение их биологических свойств является актуальной задачей. Новизна работы состоит в получении новых изолятов *A. pleuropneumoniae*, изучении их биологических свойств, депонировании в коллекцию штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ» для дальнейшего использования их при разработке вакцинных препаратов.

Целью работы было выделение возбудителей АПП от больных свиней в животноводческих хозяйствах РФ, изучение их биохимических, протеомных, антигенных и патогенных свойств.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изоляты бактерий. В работе использовали изоляты *A. pleuropneumoniae*, выделенные от свиней с респираторной патологией из свиноводческих хозяйств Российской Федерации:

№ 1 – *A. pleuropneumoniae* «AU-21» 2-го серотипа, выделен в Курской области;

№ 2 – *A. pleuropneumoniae* «N-21» 2-го серотипа, выделен в Курской области;

№ 3 – *A. pleuropneumoniae* «VT-22» 2-го серотипа, выделен в Рязанской области;

№ 4 – *A. pleuropneumoniae* «KG-21» 5-го серотипа, выделен в Белгородской области;

№ 5 – *A. pleuropneumoniae* «OE-22» 9-го серотипа, выделен в Курской области;

№ 6 – *A. pleuropneumoniae* «DI-22» 9-го серотипа, выделен в Кировской области.

База данных масс-спектрометра MALDI Autoflex III (Bruker Daltonik GmbH, Германия). Масс-спектр референтного штамма *A. pleuropneumoniae* DSM 13472.

Подопытные животные. Патогенные свойства изолятов *A. pleuropneumoniae* определяли на белых мышках массой 16–18 г и поросятах 2,5–3,0-месячного возраста, доставленных из хозяйств, благополучных по инфекционным заболеваниям.

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

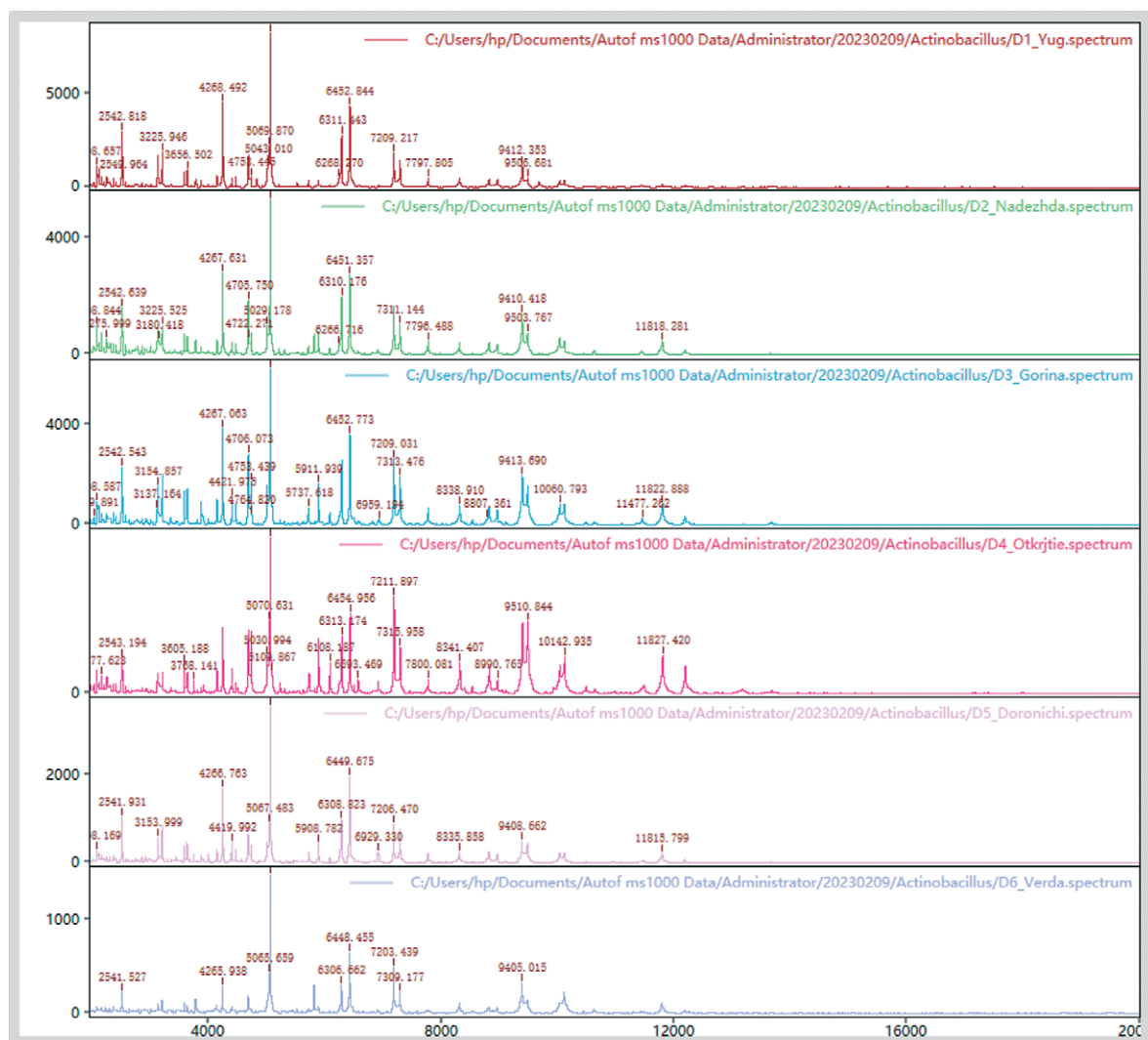


Рис. 1. Протеомические свойства (белковые профили) изолятов *A. pleuropneumoniae*

Fig. 1. Proteomic properties (protein profiles) of *A. pleuropneumoniae* isolates

Питательные среды и реактивы. Для выделения *A. pleuropneumoniae* из патологического материала использовали сердечно-мозговой агар (Becton, Dickinson and Company, США), содержащий 5% сыворотки крови лошади (АО «НПО «Микроген», Россия), 10% дрожжевого экстракта (ФГБУ «ВНИИЗЖ», Россия). Биохимические свойства изолятов изучали при помощи коммерческого набора API NH (bioMérieux, Франция).

Методы. Пробы отбирали в соответствии с «Методическими рекомендациями по отбору проб биологического материала от животных для бактериологических исследований»¹. Морфологию бактерий изучали методом микроскопии мазков, окрашенных по Граму. Культивирование бактерий на плотных агаровых средах проводили в течение 24–48 ч при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

Идентификацию бактерий *A. pleuropneumoniae* и определение их протеомических свойств проводили на масс-спектрометре Autof MS 1000 (Autobio Diagnostics Co., Ltd, Китай). Применяли метод прямого на-

несения, при котором стерильной пластиковой петлей наносили единичные колонии суточной культуры на металлический планшет-мишень. В качестве матрицы использовали насыщенный раствор СНСА (α -циано-4-гидроксикоричная кислота) в 50%-м водном ацетонитриле с 2,5%-й трифторуксусной кислотой. Калибровку прибора проводили ежедневно, используя реагент Calibrator Autobio Diagnostics (Autobio Diagnostics Co., Ltd, Китай). Масс-спектрометрический анализ изолятов *A. pleuropneumoniae* осуществляли с применением линейного режима лазера [17]. Параметры анализа оптимизировали для диапазона масс m/z (масса/заряд) от 2000 до 20 000 Да, записывали спектр, полученный в результате суммирования 20 одиночных спектров в программе Autof Acquirer V2.0.130. Анализ полученных масс-спектров проводили в программе Autof Analyzer V2.0.14 (Autobio Diagnostics Co., Ltd, Китай).

Полимеразную цепную реакцию выполняли в соответствии с методическими рекомендациями по обнаружению *A. pleuropneumoniae* методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени².

¹ Евграфова В. А., Кононов А. В., Яшин Р. В., Брянцева М. С., Степанова И. А., Бирюченков Д. А. Методические рекомендации по отбору проб биологического материала от животных для бактериологических исследований. № 03-22. Владимир: ФГБУ «ВНИИЗЖ»; 2022. 11 с.

² Щербаков А. В., Тимина А. М., Яковлева А. С., Ковалишин В. Ф. Методика обнаружения *Actinobacillus pleuropneumoniae* методом полимеразной цепной реакции. № 38-05. Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ»; 2005. 8 с.

Определение патогенных свойств изолятов возбудителя АПП на белых мышах проводили согласно «Методическим рекомендациям по оценке иммуногенности актинобациллезных антигенов в составе инактивированных вакцин»³. Для оценки патогенности каждого изолята использовали по 50 белых мышей (по 10 мышей на каждое разведение) массой 16–18 г. Мышей заражали внутрибрюшинно суточной культурой бактерий *A. pleuropneumoniae* в следующих концентрациях: 1×10^8 ; 1×10^7 ; 1×10^6 ; 1×10^5 ; 1×10^4 м. к./см³ в объеме 0,5 см³. Наблюдение за животными вели в течение 5 сут.

Расчет $Ig D_{50}$ производили по формуле Кербера в модификации Ашмарина:

$$Ig D_{50} = Ig D_N - Ig \delta (\Sigma L_i - 0,5),$$

где $Ig D_N$ – логарифм максимальной заражающей дозы;
 $Ig \delta$ – логарифм кратности разведения культуры возбудителя;

L_i – отношение количества павших к количеству зараженных животных в опыте;

ΣL_i – сумма значений L_i для всех испытанных доз.

Определение патогенных свойств изолятов возбудителя АПП на поросятах 2,5–3,0-месячного возраста. Поросят заражали интратрахеально суспензией бактерий, содержащей 1×10^8 м. к. в объеме 1,0 см³. Наблюдение за животными вели в течение 10 сут.

Для статистической обработки данных использовали приложение Microsoft Excel и стандартные статистические приемы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первым этапом данной работы было выделение возбудителя АПП из проб патологического материала, которые отбирали от павших и вынужденно убитых животных с признаками респираторной патологии в хозяйствах, неблагополучных по АПП в Белгородской, Кировской, Курской и Рязанской областях. В результате проведенных исследований для дальнейшей работы были получены 6 изолятов *A. pleuropneumoniae*, перечень которых представлен в разделе «Материалы и методы».

При определении биохимических свойств выявили, что все исследуемые изоляты ферментируют глюкозу, сахарозу, мальтозу, фруктозу и активны в отношении щелочной фосфатазы, уреазы и β -галактозидазы. При сравнении полученных данных с характеристиками референтного штамма из определителя Берджи [18] было установлено соответствие по всем проведенным тестам, что свидетельствует о принадлежности изолятов к виду *A. pleuropneumoniae*.

На следующем этапе работы были определены протеомические свойства всех изолятов *A. pleuropneumoniae*, построены белковые профили, представленные на рисунке 1, сформированы масс-листы, по которым стало возможным определение характерных пиков для каждого изолята (табл. 1).

В ходе анализа полученных результатов было установлено, что все масс-спектры изучаемых изолятов актинобацилл и референтного штамма *A. pleuro-*

Таблица 1

Анализ масс-спектров изолятов *A. pleuropneumoniae*

Table 1

Analysis of mass-spectra of *A. pleuropneumoniae* isolates

m/z	Интенсивность (%) спектра изолятов <i>A. pleuropneumoniae</i> и референтного штамма DSM 13472						
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6	DSM 13472
2541 ± 2	45	35	41	29	33	18	38
4267 ± 2	56	53	61	48	49	22	70
5085 ± 2	100	100	100	100	100	100	100
6450 ± 2	52	51	54	55	51	43	67
7207 ± 4	22	30	39	66	24	33	24
9408 ± 3	14	25	29	38	13	22	26
11 820 ± 6	2	8	11	25	6	8	5

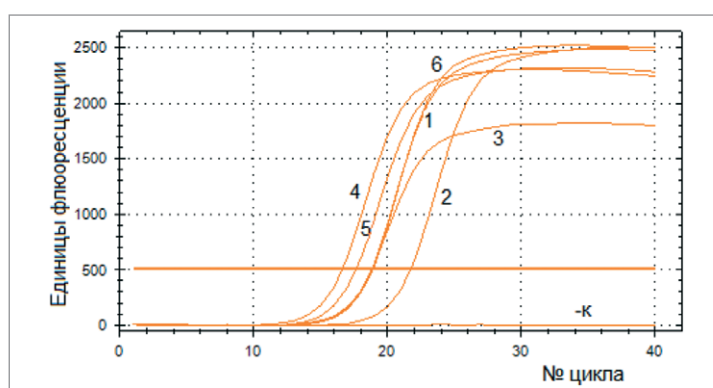


Рис. 2. Подтверждение принадлежности изолятов № 1, 2, 3, 4, 5, 6 к виду *A. pleuropneumoniae* в ПЦР-РВ («-к» – отрицательный контроль)

Fig. 2. Real-time PCR confirmation of isolate No. 1, 2, 3, 4, 5, 6 identification as *A. pleuropneumoniae* species (“-к” – negative control)

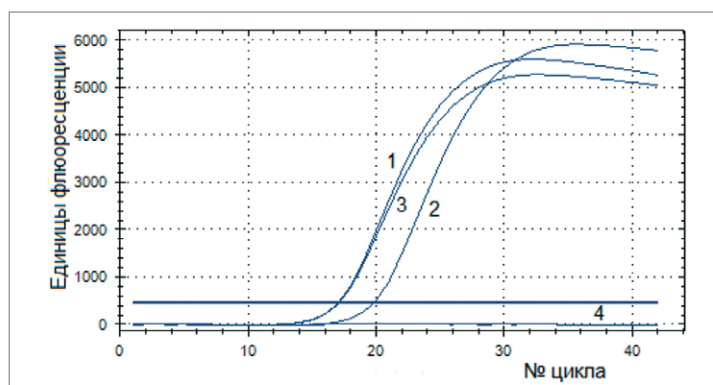


Рис. 3. Определение принадлежности изолятов *A. pleuropneumoniae* к серотипу 2 в ПЦР-РВ (1, 2, 3 – изоляты № 1, 2 и 3; 4 – изолят № 4 и отрицательный контроль)

Fig. 3. Real-time PCR identification of *A. pleuropneumoniae* isolates as serotype 2 ones (1, 2, 3 – isolates No. 1, 2 and 3; 4 – isolate No. 4 and negative control)

pneumoniae DSM 13472 находятся в диапазоне m/z 2000–12 000 Да. Для всех изолятов и референтного штамма *A. pleuropneumoniae* общими оказались пики m/z 2541 ± 2; 4267 ± 2; 5085 ± 2; 6450 ± 2; 7207 ± 4; 9408 ± 3; 11 820 ± 6, при этом самая высокая

³ Бирюченков Д. А., Русалеев В. С., Фроловцева А. А., Потехин А. В. Методические рекомендации по оценке иммуногенности актинобациллезных антигенов в составе инактивированных вакцин. № 69–08. Владимир: ФГУ «ВНИИЗЖ»; 2008. 17 с.

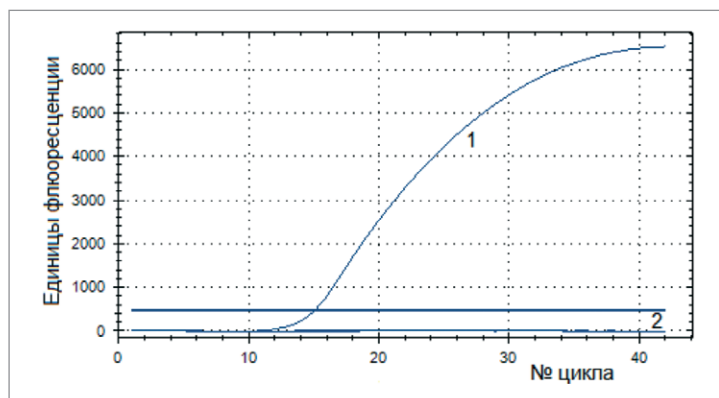


Рис. 4. Определение принадлежности изолятов *A. pleuropneumoniae* к серотипу 5 в ПЦР-РВ (1 – изолят № 4; 2 – изолят № 5 и отрицательный контроль)

Fig. 4. Real-time PCR identification of *A. pleuropneumoniae* isolates as serotype 5 ones (1 – isolate No. 4; 2 – isolate No. 5 and negative control)

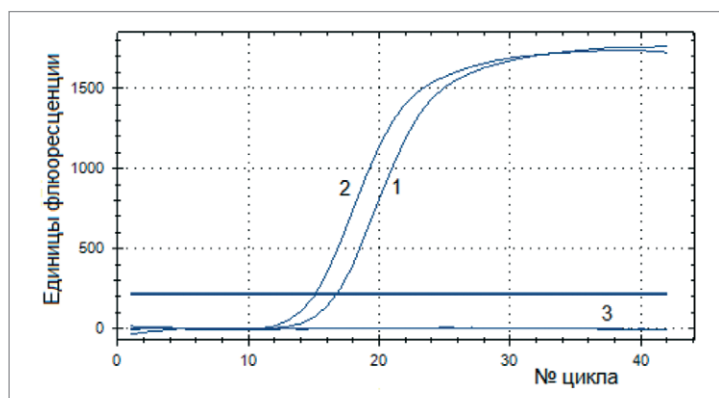


Рис. 5. Амплификация ДНК изолятов *A. pleuropneumoniae* серотипа 9 в ПЦР-РВ (1 – изолят № 5; 2 – изолят № 6; 3 – изолят, отрицательный в отношении серотипа 9, и отрицательный контроль)

Fig. 5. Real-time PCR amplification of DNAs of serotype 9 *A. pleuropneumoniae* isolates (1 – isolate No. 5; 2 – isolate No. 6; 3 – isolate negative for serotype 9 and negative control)

Таблица 2

Патогенные свойства изолятов *A. pleuropneumoniae* 2, 5 и 9-го серотипов для лабораторных и естественно восприимчивых животных

Table 2

Pathogenic properties of serotype 2, 5 and 9 *A. pleuropneumoniae* isolates for laboratory and naturally susceptible animals

Вид животных	Значение Ig ЛД ₅₀ м. к. изолятов					
	2-го серотипа			5-го серотипа	9-го серотипа	
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Белые мыши	4,99	5,09	4,89	4,19	5,59	5,19
Свиньи	6,99	7,49	6,69	5,49	7,89	7,29

интенсивность (100%) была зарегистрирована для пика 5085 ± 2 , который, как предполагаем, можно считать исключительной особенностью *A. pleuropneumoniae*.

Принадлежность изолятов к виду *A. pleuropneumoniae* также была подтверждена в полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с видоспецифичными праймерами.

На рисунке 2 показаны графики амплификации ДНК в образцах исследуемых изолятов в ПЦР-РВ, которые подтверждают принадлежность всех образцов к виду *A. pleuropneumoniae* [19–21].

Затем были определены серотипы изолятов *A. pleuropneumoniae* с использованием серотип-специфичных праймеров (рис. 3–5).

На рисунке 3 показаны графики амплификации ДНК в ПЦР-РВ изолятов № 1, 2 и 3 *A. pleuropneumoniae*, которые подтверждают их принадлежность к серотипу 2. Графики амплификации ДНК других исследуемых изолятов совпадают с отрицательным контролем, то есть не относятся к 2-му серотипу.

На рисунке 4 представлены график амплификации ДНК в ПЦР-РВ изолята № 4 *A. pleuropneumoniae*, который подтверждает его принадлежность к серотипу 5, и графики амплификации ДНК других исследуемых изолятов, которые совпадают с отрицательным контролем и не относятся к данному серотипу.

Графики амплификации ДНК изолятов серотипа 9 представлены на рисунке 5, по результатам ПЦР-РВ к этому серотипу относятся изоляты № 5 и 6, в то время как графики других изолятов совпадали с отрицательным контролем.

Таким образом, в ПЦР-РВ было установлено, что изучаемые изоляты *A. pleuropneumoniae* № 1, 2 и 3 относятся к серотипу 2, изолят № 4 – к серотипу 5, а изоляты № 5 и 6 – к серотипу 9.

Следующим этапом работы было определение патогенных свойств изолятов *A. pleuropneumoniae* на лабораторных и естественно восприимчивых животных. Для этого 50 белых мышей массой 16–18 г и поросы 2,5–3,0-месячного возраста экспериментально заражали согласно методике, представленной выше. Все испытуемые изоляты были патогенны для белых мышей и свиней, так как во всех группах, кроме контрольных, наблюдали падеж зараженных животных. Специфичность падежа была подтверждена выделением чистых культур изучаемых изолятов из посевов патологического материала от павших животных на сердечно-мозговой агар с добавками (сыворотка и дрожжевой экстракт). Через 5 сут наблюдения за белыми мышами и через 10 сут – за поросятами результаты были учтены и интерпретированы.

В таблице 2 представлены значения Ig ЛД₅₀, позволяющие провести сравнительную оценку вирулентности изолятов *A. pleuropneumoniae*. Полученные данные свидетельствуют о том, что значение Ig ЛД₅₀ при экспериментальном заражении белых мышей составило $4,99 \pm 0,1$ Ig ЛД₅₀ м. к. для изолятов № 1, 2, 3 (2-го серотипа); $4,19$ Ig ЛД₅₀ м. к. – для изолята № 4 (5-го серотипа) и $5,39 \pm 0,2$ Ig ЛД₅₀ м. к. – для изолятов № 5 и 6 (9-го серотипа). При экспериментальном заражении поросы 2,5–3,0-месячного возраста значение этого показателя было минимальным также у изолята № 4 5-го серотипа и составило $5,49$ Ig ЛД₅₀ м. к. и максимальным у изолята № 5 9-го серотипа – $7,89$ Ig ЛД₅₀ м. к., что подтверждает более высокую вирулентность изолята 5-го серотипа.

Таким образом, было установлено, что из всех изучаемых изолятов более высокая вирулентность характерна для изолята № 4, который относится к 5-му серотипу, что согласуется с данными других авторов [1], проводивших исследования патогенности актинобацилл, выделенных на территории РФ.

Результаты изучения биохимических, протеомических, серологических и патогенных свойств изолятов

позволили депонировать их в коллекцию штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ» под соответствующими названиями:

- изолят № 1 – штамм *A. pleuropneumoniae* «AU-21», серотип 2;
- изолят № 2 – штамм *A. pleuropneumoniae* «N-21», серотип 2;
- изолят № 3 – штамм *A. pleuropneumoniae* «VT-22», серотип 2;
- изолят № 4 – штамм *A. pleuropneumoniae* «KG-21», серотип 5;
- изолят № 5 – штамм *A. pleuropneumoniae* «OE-22», серотип 9;
- изолят № 6 – штамм *A. pleuropneumoniae* «DI-22», серотип 9.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате изучения биологических свойств культур, выделенных в неблагополучных по АПП свиноводческих хозяйствах Белгородской, Кировской, Курской и Рязанской областей, было установлено, что все изучаемые изоляты относятся к виду *A. pleuropneumoniae*. При изучении протеомических свойств определены характерные пики m/z : 2541 ± 2 ; 4267 ± 2 ; 5085 ± 2 ; 6450 ± 2 ; 7207 ± 4 ; 9408 ± 3 ; $11\,820 \pm 6$, аналогичные характеристикам референтного штамма *A. pleuropneumoniae*. По антигенным свойствам изоляты № 1, 2 и 3 относятся к серотипу 2; № 4 – к серотипу 5; № 5 и 6 – к серотипу 9. Все изоляты были патогенны для лабораторных и естественно восприимчивых животных. Значение $\lg LD_{50}$ при экспериментальном заражении белых мышей составило $4,99 \pm 0,1 \lg LD_{50}$ м. к. для изолятов 2-го серотипа; $4,19 \lg LD_{50}$ м. к. – для изолята 5-го серотипа и $5,39 \pm 0,2 \lg LD_{50}$ м. к. – для изолятов 9-го серотипа. На основании полученных результатов изоляты были депонированы в коллекцию штаммов микроорганизмов ФГБУ «ВНИИЗЖ» с целью использования их для создания вакцин против АПП.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Скородумов Д. И. Актинобациллезная (гемофилезная) плевропневмония и гемофилезный полисерозит свиней (этиология, лабораторная диагностика, основы специфической профилактики актинобациллезной плевропневмонии): автореф. дис. ... д-ра вет. наук. М.; 1997. 38 с.
2. Desrosiers R., Moore C. Indirect transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Swine Health and Production*. 1998; 6 (6): 263–265.
3. Jacobsen M. J., Nielsen J. P., Nielsen R. Comparison of virulence of different *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes and biotypes using an aerosol infection model. *Vet. Microbiol.* 1996; 49 (3–4): 159–168. DOI: 10.1016/0378-1135(95)00184-0.
4. Jobert J. L., Savoye C., Cariolet R., Kobisch M., Madec F. Experimental aerosol transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to pigs. *Can. J. Vet. Res.* 2000; 64 (1): 21–26. PMID: 10680652.
5. Gottschalk M. *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes, pathogenicity and virulence. *Proc. AASV*. 2007; 381–384.
6. Русалеев В. С., Бирюченков Д. А., Фроловцева А. А. Актинобациллезная плевропневмония свиней: профилактика и меры борьбы. *Свиноводство*. 2007; 4: 28–29. EDN: IBOJB.
7. Скородумов Д. И. Актинобациллезная пневмония свиней. *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. 2008; 12: 10–13.
8. Тимина А. М., Бирюченкова М. В., Щербак А. В. Генодиагностика актинобациллезной плевропневмонии свиней. *Труды Федерального центра охраны здоровья животных*. 2010; 8: 114–121. EDN: NDHHLN.
9. Haesebrouck F., Chiers K., Van Overbeke I., Ducatelle R. *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in pigs: the role of virulence factors in pathogenesis and protection. *Vet. Microbiol.* 1997; 58 (2–4): 239–249. DOI: 10.1016/S0378-1135(97)00162-4.
10. Фроловцева А. А. Получение антигенов *Actinobacillus pleuropneumoniae* для инактивированных вакцин: автореф. дис. ... канд. вет. наук. Владимир; 2008. 25 с.

11. Crujjsen T., van Leengoed L. A., Ham-Hoffies M., Verheijden J. H. Convalescent pigs are protected completely against infection with a homologous *Actinobacillus pleuropneumoniae* strain but incompletely against a heterologous-serotype strain. *Infect. Immun.* 1995; 63 (6): 2341–2343. DOI: 10.1128/iai.63.6.2341-2343.1995.
12. Loera-Muro A., Angulo C. New trends in innovative vaccine development against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet. Microbiol.* 2018; 217: 66–75. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.02.028.
13. Ramjeet M., Deslandes V., Gouré J., Jacques M. *Actinobacillus pleuropneumoniae* vaccines: from bacterins to new insights into vaccination strategies. *Anim. Health Res. Rev.* 2008; 9 (1): 25–45. DOI: 10.1017/S1466252307001338.
14. Потехин А. В., Лебедев Н. В., Русалеев В. С. Антигенные и иммунные свойства анатоксина *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Ветеринария и кормление*. 2013; 5: 42–43. EDN: RCBGQR.
15. Stancheva S. G., Frömling J., Sassu E. L., Hennig-Pauka I., Ladinig A., Gerner W., et al. Proteomic and immunoproteomic insights into the exoproteome of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, the causative agent of porcine pleuropneumonia. *Microb. Pathog.* 2022; 172:105759. DOI: 10.1016/j.micpath.2022.105759.
16. Antenucci F., Magnowska Z., Nimtz M., Roesch C., Jänsch L., Bojesen A. M. Immunoproteomic characterization of outer membrane vesicles from hyper-vesiculating *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet. Microbiol.* 2019; 235: 188–194. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.07.001.
17. Kuhnert P., Bisgaard M., Korczak B. M., Schwendener S., Christensen H., Frey J. Identification of animal *Pasteurellaceae* by MALDI-TOF mass spectrometry. *J. Microbiol. Methods*. 2012; 89 (1): 1–7. DOI: 10.1016/j.mimet.2012.02.001.
18. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П., Стейли Дж., Уилльямс С. Определитель бактерий Берджи. В 2 т. М.: Мир; 1997. 800 с.
19. Xiao G., Cao S., Huang X., Wen X. DNA microarray-based identification and typing of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Can. J. Vet. Res.* 2009; 73 (3): 190–199. PMID: 19794891.
20. Angen O., Ahrens P., Jessing S. G. Development of a multiplex PCR test for identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1, 7, and 12. *Vet. Microbiol.* 2008; 132 (3–4): 312–318. DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.05.010.
21. Zhou L., Jones S. C., Angen Ø., Bossé J. T., Nash J. H., Frey J., et al. Multiplex PCR that can distinguish between immunologically cross-reactive serovar 3, 6, and 8 *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46 (2): 800–803. DOI: 10.1128/JCM.01787-07.

REFERENCES

1. Skorodumov D. I. Porcine *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* and hemophilic polyserositis (etiology, laboratory diagnosis, basic specific prevention of *Actinobacillus pleuropneumoniae*): Author's Abstract of Thesis for degree of Doctor of Science (Veterinary Medicine). Moscow; 1997. 38 p. (in Russ.)
2. Desrosiers R., Moore C. Indirect transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Swine Health and Production*. 1998; 6 (6): 263–265.
3. Jacobsen M. J., Nielsen J. P., Nielsen R. Comparison of virulence of different *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes and biotypes using an aerosol infection model. *Vet. Microbiol.* 1996; 49 (3–4): 159–168. DOI: 10.1016/0378-1135(95)00184-0.
4. Jobert J. L., Savoye C., Cariolet R., Kobisch M., Madec F. Experimental aerosol transmission of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to pigs. *Can. J. Vet. Res.* 2000; 64 (1): 21–26. PMID: 10680652.
5. Gottschalk M. *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotypes, pathogenicity and virulence. *Proc. AASV*. 2007; 381–384.
6. Rusaleev V. S., Biryuchenkov D. A., Frolovtsseva A. A. Aktinobatsilleznaya plevropnevmoniya svinei: profilaktika i mery bor'by = Porcine (*Actinobacillus*) pleuropneumonia: prevention and control measures. *Pig-breeding*. 2007; 4: 28–29. EDN: IBOJB. (in Russ.)
7. Skorodumov D. I. Aktinobatsilleznaya pnevmoniya svinei = Porcine (*Actinobacillus*) pleuropneumonia. *Veterinariya sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh*. 2008; 12: 10–13. (in Russ.)
8. Timina A. M., Biryuchenkova M. V., Scherbakov A. V. Genetic diagnosis of porcine (*Actinobacillus*) pleuropneumonia. *Proceedings of the Federal Centre for Animal Health*. 2010; 8: 114–121. EDN: NDHHLN. (in Russ.)
9. Haesebrouck F., Chiers K., Van Overbeke I., Ducatelle R. *Actinobacillus pleuropneumoniae* infections in pigs: the role of virulence factors in pathogenesis and protection. *Vet. Microbiol.* 1997; 58 (2–4): 239–249. DOI: 10.1016/S0378-1135(97)00162-4.
10. Frolovtsseva A. A. Preparation of *Actinobacillus pleuropneumoniae* antigens for inactivated vaccines: Author's Abstract of Thesis for degree of Candidate of Science (Veterinary Medicine). Vladimir; 2008. 25 p. (in Russ.)
11. Crujjsen T., van Leengoed L. A., Ham-Hoffies M., Verheijden J. H. Convalescent pigs are protected completely against infection with a homologous *Actinobacillus pleuropneumoniae* strain but incompletely against

a heterologous-serotype strain. *Infect. Immun.* 1995; 63 (6): 2341–2343. DOI: 10.1128/iai.63.6.2341-2343.1995.

12. Loera-Muro A., Angulo C. New trends in innovative vaccine development against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet. Microbiol.* 2018; 217: 66–75. DOI: 10.1016/j.vetmic.2018.02.028.

13. Ramjeet M., Deslandes V., Gouré J., Jacques M. *Actinobacillus pleuropneumoniae* vaccines: from bacterins to new insights into vaccination strategies. *Anim. Health Res. Rev.* 2008; 9 (1): 25–45. DOI: 10.1017/S1466252307001338.

14. Potekhin A. V., Lebedev N. V., Rusalev V. S. Antigenicity and immunogenicity of *Actinobacillus pleuropneumoniae* toxoid. *Veterinaria i kormlenie.* 2013; 5: 42–43. EDN: RCBGQR. (in Russ.)

15. Stancheva S. G., Frömbing J., Sassu E. L., Hennig-Pauka I., Ladnig A., Gerner W., et al. Proteomic and immunoproteomic insights into the exoproteome of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, the causative agent of porcine pleuropneumonia. *Microb. Pathog.* 2022; 172:105759. DOI: 10.1016/j.micpath.2022.105759.

16. Antenucci F., Magnowska Z., Nimtz M., Roesch C., Jänsch L., Bojesen A. M. Immunoproteomic characterization of outer membrane vesicles from hyper-vesiculating *Actinobacillus pleuropneumoniae*. *Vet. Microbiol.* 2019; 235: 188–194. DOI: 10.1016/j.vetmic.2019.07.001.

17. Kuhnert P., Bisgaard M., Korczak B. M. Schwendener S., Christensen H., Frey J. Identification of animal *Pasteurellaceae* by MALDI-TOF mass spectrometry. *J. Microbiol. Methods.* 2012; 89 (1): 1–7. DOI: 10.1016/j.mimet.2012.02.001.

18. Holt J. G., Krieg N. R., Sneath P. H. A., Staley J. T., Williams S. T. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1994. 787 p.

19. Xiao G., Cao S., Huang X., Wen X. DNA microarray-based identification and typing of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1, 7, and 12. *Can. J. Vet. Res.* 2009; 73 (3): 190–199. PMID: 19794891.

20. Angen O., Ahrens P., Jessing S. G. Development of a multiplex PCR test for identification of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1, 7, and 12. *Vet. Microbiol.* 2008; 132 (3–4): 312–318. DOI: 10.1016/j.vetmic.2008.05.010.

21. Zhou L., Jones S. C., Angen Ø., Bossé J. T., Nash J. H., Frey J., et al. Multiplex PCR that can distinguish between immunologically cross-reactive serovar 3, 6, and 8 *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains. *J. Clin. Microbiol.* 2008; 46 (2): 800–803. DOI: 10.1128/JCM.01787-07.

Поступила в редакцию / Received 21.04.2023

Поступила после рецензирования / Revised 15.05.2023

Принята к публикации / Accepted 22.05.2023

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Евграфова Валерия Андреевна, кандидат ветеринарных наук, заведующий лабораторией профилактики бактериальных болезней ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3053-6976>, e-mail: evgrafova@arriah.ru.

Прунтова Ольга Владиславовна, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник информационно-аналитического центра ФГБУ «ВНИИЗЖ» г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>, e-mail: pruntova@arriah.ru.

Шадрова Наталья Борисовна, кандидат биологических наук, заведующий отделом микробиологических исследований ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-7510-1269>, e-mail: shadrova@arriah.ru.

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.

Valeria A. Evgrafova, Candidate of Science (Veterinary Medicine), Head of Laboratory for Bacterial Disease Prevention, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3053-6976>, e-mail: evgrafova@arriah.ru.

Olga V. Pruntova, Doctor of Science (Biology), Professor, Chief Researcher, Information and Analysis Centre, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-3143-7339>, e-mail: pruntova@arriah.ru.

Natalya B. Shadrova, Candidate of Science (Biology), Head of Department for Microbiological Testing, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-7510-1269>, e-mail: shadrova@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.

ЖУРНАЛ «ВЕТЕРИНАРИЯ СЕГОДНЯ» ПРИГЛАШАЕТ АВТОРОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ СВОИХ НАУЧНЫХ РАБОТ

- Журнал основан в 2012 г. на базе ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных».
- Статьи публикуются на двух языках: русском и английском.
- Основными направлениями являются результаты теоретических и экспериментальных исследований в области ветеринарии и ветеринарной микробиологии, тенденций развития ветеринарной науки, обсуждение актуальных вопросов в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных.
- Журнал распространяется по всей территории России, а также в крупнейших мировых научных центрах.
- Мы публикуем статьи как выдающихся, так и молодых ученых, специалистов-практиков, работников ветеринарных учреждений для обмена опытом, обеспечения устойчивого ветеринарного благополучия и новых научных дискуссий.

ЗАДАЧИ ЖУРНАЛА

- Изучение основных тенденций развития ветеринарной науки.
- Анализ широкого круга передовых технологий в области мониторинга и эпизоотологии болезней животных, представление результатов теоретических и экспериментальных исследований в данной области.
- Обсуждение актуальных вопросов ветеринарии.

ПОДРОБНЕЕ ОБ УСЛОВИЯХ ПУБЛИКАЦИИ СТАТЕЙ ВЫ МОЖЕТЕ УЗНАТЬ В НАШЕЙ РЕДАКЦИИ

Адрес: 600901, Россия, г. Владимир, мкр. Юрьевец

Телефоны: +7 (4922) 26-15-12, 26-17-65, 26-19-88, доб. 22-27

Контактное лицо: Никешина Татьяна Борисовна,
e-mail: nikeshina@arriah.ru

Узнайте больше на сайте журнала
<http://veterinary.arriah.ru/jour/index>

**«Ветеринария сегодня» –
это прекрасная возможность
заявить о себе миру!**

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫМ СТАТЬЯМ

К публикации принимаются статьи на двух языках – русском и английском, – содержащие результаты собственных научных исследований, объемом до 6–8 страниц (до 10 страниц – для обзора); но не менее 5 (при одинарном интервале и размере шрифта 12 пт). Оптимальный объем статьи: 3000–6000 слов.

Предоставление в редакцию рукописи статьи является подтверждением согласия автора на использование его произведения как в бумажном, так и в электронном виде. Авторы несут ответственность за полноту и достоверность цитируемой в их работах литературы, а также за публикацию заимствованного материала без ссылки на источник. Материалы направляются в редакцию с сопроводительным письмом от организации автора (форма на сайте).

СТРУКТУРА ПРЕДОСТАВЛЯЕМОЙ СТАТЬИ

1. УДК

2. Название статьи

3. **Имя, отчество, фамилия авторов**, место работы, город, страна, ORCID ID, адрес электронной почты.

4. **Резюме** (краткое точное изложение содержания статьи, включающее фактические сведения и выводы описываемой работы): 200–250 слов, но не более 2000 знаков.

5. **Ключевые слова** (5–6 слов, словосочетаний), наиболее точно отображающие специфику статьи.

6. **Благодарности** (в случае финансирования исследования организацией или желания выразить благодарность определенным людям).

7. Для цитирования

8. Конфликт интересов

9. **Для корреспонденции** (фамилия, имя, отчество (полностью), ученая степень, научное звание, должность, адрес, электронная почта).

10. Введение

11. Материалы и методы

12. Результаты и обсуждение

13. Выводы или заключение

14. **Список литературы** (ванкуверский стиль – расположение источников в порядке их цитирования; количество цитируемых работ в оригинальных статьях – около 30, в обзорах – не более 60).

15. **Информация об авторах** (фамилия, имя, отчество (полностью), ученая степень, научное звание, должность, город, страна).

16. К размещению принимаются иллюстрированные материалы (фото, графики) хорошей контрастности, с разрешением не ниже 300 точек на дюйм (300 dpi), оригиналы прикладываются к статье отдельными файлами в формате .tif или .jpg (рисунки, не соответствующие требованиям, будут исключены из статей, поскольку достойное их воспроизведение типографским способом невозможно).

Работа должна быть представлена в редакторе WORD, формат DOC, шрифт Times New Roman, размер шрифта – 12 пт, межстрочный интервал – одинарный, размер полей – по 2 см, отступ в начале абзаца – 1 см, форматирование по ширине.

Рисунки, таблицы, схемы, графики и пр. должны быть обязательно пронумерованы, иметь источники и уместиться в печатное поле страницы. Название таблицы – над таблицей; название рисунка/графика – под рисунком/графиком. Максимальное суммарное количество таблиц и рисунков в одной статье должно быть не более 5.

Оригиналы и копии присланных статей не возвращаются. Авторы должны гарантировать, что поданный материал не был ранее опубликован. Важным условием для принятия статей в журнал «Ветеринария сегодня» является выполнение всех вышеперечисленных требований редакции.



ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ
ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ»
FGBI "FEDERAL CENTRE FOR ANIMAL HEALTH" (FGBI "ARRIAH")

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 ZOO NOTIC CORONAVIRUSES

ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ» (ФГБУ «ВНИИЗЖ») ОБЪЯВЛЯЕТ О ПРИЕМЕ В АСПИРАНТУРУ В 2023 ГОДУ ПО ДВУМ НАПРАВЛЕНИЯМ ПОДГОТОВКИ:

4.2 Зоотехния и ветеринария

специальность 4.2.3 Инфекционные болезни и иммунология животных – 8 мест;

1.5 Биологические науки

специальность 1.5.10 Вирусология – 4 места.

Необходимые документы:

- заявление на имя директора ФГБУ «ВНИИЗЖ»;
- документ (документы), удостоверяющий личность и гражданство поступающего;
- оригинал диплома специалиста или диплома магистра;
- список опубликованных научных работ, изобретений и отчетов по научно-исследовательской работе, подписанный в установленном порядке. Лица, не имеющие опубликованных научных работ и изобретений, предоставляют реферат по избранному направлению подготовки;
- документ, свидетельствующий об индивидуальных достижениях поступающего (дипломы победителя или лауреата конкурсов, фестивалей, выставок и т. д.);
- медицинская справка (форма № 086/у);
- фото (4 × 6 см) – 2 шт.

Прием документов для поступления в аспирантуру проводится с 1 июня по 31 августа 2023 года

Поступающие в аспирантуру сдают конкурсные вступительные экзамены в соответствии с государственными образовательными стандартами высшего профессионального образования по специальной дисциплине, философии и иностранному языку.

Адрес приемной комиссии:

600901, г. Владимир, мкр. Юрьевец,
ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных»
(ФГБУ «ВНИИЗЖ»)

Телефоны для справок:

8 (4922) 52-99-62; 26-15-12 (доб. 22-27, 20-20, 22-20)

Официальный сайт ФГБУ «ВНИИЗЖ»:

www.arriah.ru

19–20 ОКТЯБРЯ 2023 ГОДА ФГБУ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ОХРАНЫ ЗДОРОВЬЯ ЖИВОТНЫХ» ПРОВОДИТ МЕЖДУНАРОДНУЮ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКУЮ КОНФЕРЕНЦИЮ, ПОСВЯЩЕННУЮ 65-ЛЕТИЮ УЧРЕЖДЕНИЯ

Информацию по вопросам участия в конференции можно получить по электронной почте arriah@fsvps.gov.ru (с пометкой «Участие в конференции»)